

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1932-1933. — N° 18

**Contribution à l'étude
des propriétés antimicrobiennes
des lysats fibrats
obtenus à partir de cultures liquides
de bacilles pyocyaniques
et pneumobacilles de Friedländer**

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 25 Novembre 1932

PAR

Armand-Marius PALINACCI

ÉLÈVE DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE
EX-PRÉPARATEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE BORDEAUX
DIPLOMÉ DE MÉDECINE COLONIALE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
Né à TOULON (Var), le 24 novembre 1907.

Examineurs de la Thèse	{	MM. MAURIAC, professeur.....	} Président.	
		BONNIN, professeur.....		
		AUBERTIN, agrégé.....		} Juges.
		DAMADE, agrégé		

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ
Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR
3-6, Place Saint-Christoly

1932

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1932-1933. — N° 18

**Contribution à l'étude
des propriétés antimicrobiennes
des lysats fibrats
obtenus à partir de cultures liquides
de bacilles pyocyaniques
et pneumobacilles de Friedländer**

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 25 Novembre 1932

PAR

Armand-Marius PALINACCI

ELÈVE DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE

EX-PRÉPARATEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE BORDEAUX

DIPLOMÉ DE MÉDECINE COLONIALE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Né à TOULON (Var), le 24 novembre 1907.

Examineurs de la Thèse	{	MM. MAURIAC, professeur.....	Président.
		BONNIN, professeur.....	Juges.
		AUBERTIN, agrégé.....	
		DAMADE, agrégé	

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ

Y. CADORET, DELMAS, SUCCESEUR

3-6, Place Saint-Christoly

1932

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS. Doyen.



PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. POUSSON, MOURE, W. DUBREUILH, RIVIÈRE, BARTHE,
DENIGES, AUCHÉ, SELLIER.

PROFESSEURS

	MM.		MM.
Clinique médicale.	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie	MANDOUL.
id.	CASSAET.	Médecine expérimentale	DUPÉRIÉ.
Clinique chirurgicale.	CHAVANNAZ.	Clinique ophtalmologique	TEULIÈRES
id.	BÉGOUIN.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie. .	ROCHER.
Pathologie et thérapeutiques générales. .	CARLES.	Clinique gynécologique.	GUYOT.
Clinique d'accouchements.	ANDÉRODIAS.	Clinique méd. des maladies des enfants. .	CRUCHET.
Anatomie pathol. et microscopie clinique.	SABRAZÈS.	Chimie biologique et médicale.	DELAUNAY.
Anatomie	VILLEMEN.	Physique médicale et pharmaceutique. . .	SIGALAS.
Anatomie générale et histologie.	G. DUBREUIL.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques.	BONNIN.
Physiologie.	PACHON	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	PETGES.
Hygiène.	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires.	DUVERGEY
Médecine légale et déontologie.	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales.	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité méd.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie.	PORTMANN
Chimie.	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT.
Botanique et matière médicale.	BEILLE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie. .	CREYX.
Pharmacie	DUPOUY.	Clinique dentaire	CAVALIÉ.

MM MICHELEAU (Médecine générale), MURATET (Anatomie pathologique), GOLSE (Pharmacie).
LACOSTE (Histologie).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie	DUBECQ.	Chirurgie générale	PAPIN.
id.	DUFOUR.	id.	JEANNENEY.
Physiologie.	FABRE.	id.	CHARRIER.
Parasitologie et sciences naturelles. . . .	R. SIGALAS.	id.	LOUBAT.
Médecine générale.	N.	Obstétrique.	PERY.
id.	AUBERTIN.	id.	RIVIÈRE.
id.	DAMADE.	Ophtalmologie.	BEAUVIEUX
id.	PIÉCHAUD.	Dermatologie & syphiligraphie.	JOULIA.
id.	DELMAS-MARSALET.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie.	VITTE
Maladies mentales.	PERRENS.		

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire.	PAPIN.	Puériculture	FAUGÈRE.
Physiologie	FABRE.	Démonstrations et préparations pharmac.	GOLSE.
Accouchements	PERY.	Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.
Ophtalmologie.			
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes.			
Cours complémentaire annexe. — Prothèse et rééducation professionnelle			
id.			
Clinique dentaire			

MM. { CABANNES (en congé).
BEAUVIEUX (chargé).
N.
GOURDON.
DELGUEL.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

*Chevalier de la Légion d'honneur,
Médaille militaire.*

MORT POUR LA FRANCE

A MA FEMME

Gage de mon amour.

A MA MERE

A MES BEAUX-PARENTS

A CEUX QUI ME SONT CHERS

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL DARGEIN

*Directeur de l'Ecole principale du Service de Santé de la Marine
et des Colonies,
Médecin des Hôpitaux maritimes,
Commandeur de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR MARC MOUREAU

*Assistant à la Faculté de médecine de Bordeaux,
Chef de Laboratoire à l'Hôpital des Enfants-Assistés,
Croix de guerre.*

Auprès de qui nous avons toujours
trouvé un si bon accueil avec les meil-
leurs conseils. De grand cœur, nous lui
disons : Merci.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ E. AUBERTIN

*Chef des Travaux pratiques de Bactériologie,
Médecin des Hôpitaux,
Chef de Service à l'Institut Pasteur de Bordeaux,
Croix de guerre.*

Qui a bien voulu nous initier à la bac-
tériologie, nous indiquer le sujet de
notre thèse, suivre et contrôler nos re-
cherches. Qu'il nous soit permis de lui
adresser nos sincères remerciements et
l'assurance de notre reconnaissance pour
tout ce qu'il a fait pour nous.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. MAURIAC

*Professeur de Clinique médicale à la Faculté de médecine de Bordeaux,
Médecin des Hôpitaux,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Officier de l'Instruction publique.*

A notre premier Maître en bactériologie et médecine expérimentale, qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider notre thèse et à qui nous sommes fiers de témoigner toute notre reconnaissance et le gage de notre dévouement.

**Contribution à l'étude des
propriétés antimicrobiennes des lysats fibrats
obtenus à partir de cultures liquides
de bacilles pyocyaniques
et pneumobacilles de Friedländer**

INTRODUCTION

Déjà depuis longtemps on connaissait l'action antagoniste produite sur certains microbes par le bacille pyocyanique et par le pneumobacille de Friedländer. De 1889 à nos jours, un grand nombre d'auteurs avaient étudié certains points de cette question, délaissant la plupart des germes pour se cantonner presque exclusivement sur le charbon et les bacilles diphtériques, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*.

C'est pour coordonner ces recherches parfois disparates tant au point de vue sujets d'expériences que résultats obtenus que M. le Professeur agrégé E. Aubertin nous suggéra, en février 1930, de reprendre cette question suivant un programme moins limité, afin d'avoir une idée plus générale sur l'antagonisme de ces deux bacilles vis-à-vis des autres germes.

Notre maître nous fit servir d'un lysat filtrat obtenu à partir de culture en bouillon, préparé suivant la technique spéciale que nous décrivons plus loin. En effet, si le filtrat seul avait été déjà employé, si le lysat vaccin était déjà

dans le commerce, nous n'avons jamais vu employer l'association d'un lysat et d'un filtrat. Pourtant, dans un tel milieu, nous avons les plus grandes chances d'y trouver le plus grand nombre de principes actifs provenant soit de la sécrétion de ce germe, soit de sa lyse.

Notre thèse se compose de six chapitres. Dans le premier nous rappelons brièvement les travaux antérieurs sur ces questions. Dans le deuxième nous décrivons notre technique de préparation des lysats filtrats. Dans les deux chapitres suivants, nous étudions l'action de ces deux lysats filtrats sur tous les germes que nous avons à notre disposition. Nous avons ainsi vu que l'on pouvait ranger les différents microbes en deux grandes classes, ceux qui sont détruits après un contact plus ou moins long avec les lysats filtrats et ceux qui continuent à s'y développer. Nous nous sommes attardés un peu plus longuement sur la question « pyocyanique et diphtérique » et « pneumobacille et diphtérique ». Nous avons voulu voir l'action sur le bacille de Löffler du pyocyanique et du pneumobacille, de leurs produits de sécrétion, et de leurs produits de lyse. Dans le chapitre V, nous avons étudié les effets de ces deux lysats filtrats en pathologie expérimentale pour le charbon, pour les streptococcies et pour la rage. Dans notre dernier chapitre, nous avons fait l'essai de ces deux produits en pathologie humaine. M. le Professeur agrégé Aubertin nous a conseillé d'étudier les actions de ces deux produits dans les affections suppurées à germes multiples, telles que les affections suppurées gynécologiques. Nous nous excusons pour le petit nombre d'observations que nous avons pu obtenir. Nous avons toujours trouvé de la difficulté pour soigner nos malades (malgré toute la bienveillance dont nous ont entouré les chefs de service) qui ont été souvent difficiles à suivre et même à traiter ayant peur, comme elles disaient, du « produit nouveau » et ne voulant pas servir « d'animaux d'expériences ».

Toutefois, nous n'avons pu mener à bien notre essai de traitement par le lysat filtrat de bacilles pyocyaniques, sans

user largement de l'autorisation qu'ont bien voulu nous donner facilement M. le Professeur Bégouin, M. le Professeur agrégé Joulia, M. le Docteur Lafargue, chirurgien des hôpitaux, et notre ami le Docteur Georges Dubourg, chef de clinique chirurgicale. Grâce à eux, nous avons pu apporter à la fin de notre thèse un timide essai d'applications thérapeutiques de notre pyocyanose en pathologie humaine. Pour la liberté d'action qu'ils nous ont octroyée et pour leur bienveillance à notre égard, qu'il nous soit permis de leur adresser nos respectueux remerciements.

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à faciliter nos expériences, à tous nos amis qui ont bien voulu utiliser notre pyocyanose, nous adressons nos vifs remerciements avec l'assurance de notre sincère amitié.

CHAPITRE PREMIER

Historique.

La question de l'antagonisme des bactéries et de leurs produits de sécrétion fut déjà entrevue et étudiée depuis longtemps. Dès 1880, Pasteur constata le premier « l'antagonisme qui existe entre les bactéries et l'action délétère des produits de la culture d'une espèce microbienne sur une autre ».

En 1888, pour la première fois, on commença à étudier l'action d'un filtrat de culture de pyocyanique sur la bactériidie charbonneuse. Bouchard montra l'antagonisme entre la bactérie de Davaine et le « bacille du pus bleu »; il constata, à la suite d'une série d'inoculations pratiquées d'abord avec de la bactériidie charbonneuse et quelques heures plus tard avec du bacille pyocyanique, une survie de 46 p. 100 par rapport aux témoins, mais les animaux ainsi traités n'ont pas acquis l'immunité. La même année, Charrin et Guignard ont étudié la culture associée, bactériidie charbonneuse et bacille pyocyanique; ils ont pu constater au bout de huit jours une atténuation de virulence et des modifications morphologiques de la bactériidie charbonneuse. Déjà, à cette époque, ils pensent à l'atténuation de la bactériidie au contact des produits fabriqués par le bacille du pus bleu ».

Poursuivant la même étude et toujours en 1888, Freudenreich obtient, en reprenant les expériences de Bouchard, une survie de 28 p. 100, mais il insiste sur la quantité de culture des bacilles pyocyaniques injectée, qui doit être notable. L'année suivante, il élargit le champ de ses recherches et étudie l'action empêchante des cultures filtrées de pyocyanique sur le développement de certains germes; il ensemence dans un filtrat de culture des bacilles du pus bleu de 3 à 6 semaines, quelques microbes; il constate une croissance

nulle pour le bacille d'Eberth et pour le vibron cholérique, une culture faible pour les staphylocoques, tétragène et pneumobacille de Friedländer.

Pour expliquer ce phénomène, on admettait alors l'hypothèse de Gané, supposant la production de substances nuisibles dans les bouillons de culture. Freudenreich, par une série d'expériences, montre que cette hypothèse ne suffit pas pour donner une explication complète.

En 1894, Krauss remarque que des cobayes injectés avec des cultures tirées de pyocyanique résistent à l'infection éberthienne. Emmerich et Tromms étudient sur le lapin le traitement préventif de l'infection streptococcique, et Saar signale les bons effets des filtrats de pyocyanique dans les angines à streptocoques et à staphylocoques.

En 1895, Jehle prétend, grâce à ce filtrat, faire disparaître du pharynx le micrococcus catarrhalis.

Au début de ce siècle, on délaisse un peu la question des rapports de la bactériémie charbonneuse et du bacille pyocyanique, et des expérimentateurs cherchent à établir l'antagonisme entre les bacilles diphtériques et le filtrat de pyocyanique. Muhsam insista sur l'action bactériolytique, surtout vis-à-vis du bacille diphtérique et sur les conséquences pratiques. Schlippe démontra le peu d'action du filtrat de culture sur le porteur de germes, tandis que pour Escherich celui-ci est un puissant désinfectant de la gorge au cours des angines diphtériques et chez les porteurs de germes.

En 1909, Podwyssokki et Adandff étudient l'action de la pyocyanase sur le bacille diphtérique, sur le cholérique et les colibacilles.

En 1913, Isabolinsky reprend cette étude *in vitro* et *in vivo*. *In vitro*, du troisième au quatrième jour, il remarqua l'immobilisation des germes et l'apparition de formes d'involution, mais les cultures restent parfois vivantes, même après cinq jours. *In vivo*, la pyocyanure injectée en même temps qu'une dose mortelle de streptocoque ou de bactéries charbonneuses ne fait que retarder l'issue fatale.

A cette époque, on s'occupa à nouveau de la question charbon et pyocyanique. Emmerich et Saïda trouvent que la dissolution du bacille charbonneux dans le corps des animaux injectés se produit plus vite qu'*in vitro* lorsqu'on inocule à ces animaux, sous la peau, de la pyocyanase immédiatement après l'inoculation.

En 1910, d'Agata trouva que :

1° Le bacille du charbon dans le bouillon culture du bacille pyocyanique non stérilisé perd par degrés sa virulence, qui s'éteint entièrement en l'espace d'un mois.

2° Dans ce bouillon culture stérilisé à 55 degrés, la vitalité du charbon à une température inférieure à 15 degrés diminue lentement; à 35 degrés cette vitalité est éteinte en l'espace de dix jours.

De son côté, Fortineau commençait, à Angers, sa belle série d'étude sur le traitement du charbon, qu'il devait poursuivre jusqu'à sa mort.

Dès 1913, dans la thèse de Rouiller, il donna une étude de sa « pyocyanéine » qui est une « culture minérale » (1) des bacilles pyocyaniques âgés de 15 jours à 1 mois, stérilisée à 70 degrés pendant une heure, mais non filtrée.

La guerre de 1914-1918 devait interrompre tous les travaux. Ce n'est qu'en 1919 que l'on recommence à étudier, avec Launoy, Gessard et de Angelis, les propriétés curatives du pyocyanique et que l'on essaie d'avoir une notion sur la nature exacte du produit des filtrats.

En 1921, Delbet, reprenant son bouillon vaccin de 1914, y ajoute du pyocyanique, parce qu'il a constaté son action empêchante sur les cultures de streptocoques et parce qu'on a attribué à la pyocyanase une action thérapeutique.

(1) Milieu minéral de Fortineau :

Succinate d'ammoniaque	40 g.
Sel marin	0 g. 50
Carbonate d'ammoniaque	0 g. 30
Phosphate de potasse	0 g. 05
Eau	1.000 g.

Dupont signale dans le *Progrès médical* les heureux résultats depuis cette adjonction.

En 1922, signalons les recherches de Dukes sur l'enzyme du bacille pyocyanique et les travaux de Favreul et Fortineau sur le traitement de la furonculose, de l'érysipèle, de l'ostéomyélite, de la pyodermite et du charbon par un vaccin pyocyanique préparé sur milieu minéral de Fortineau. Ils obtiennent une guérison constante dans la furonculose, dans la pyodermite et l'érysipèle; des résultats moins constants dans l'ostéomyélite.

L'année 1923 a été occupée par une foule de recherches sur la bactériophage du bacille pyocyanique. A peine trouve-t-on, parmi de nombreuses publications, celles de Weniberg et Aznar, qui étudient l'action du filtrat de culture de pyocyanose sur les anaérobies. De leur intéressante communication à la Société de biologie, il résulte que les anaérobies ne sont pas gênés dans leur développement par le filtrat du bacille pyocyanique; la toxine des anaérobies n'est pas modifiée, et le bacille pyocyanique pousse bien dans les cultures d'anaérobies.

La même année, Goris et Liot montrent l'importance des sels ammoniacaux organiques dans la production de la pyocyanine par le bacille pyocyanique.

En 1924, parurent les résultats des travaux d'une dizaine d'années de Fortineau dans la thèse de Maurice de Saint-Florent sur le traitement du charbon par l'injection sous-cutanée de pyocyanéine. Nous y trouvons la technique précise de ce traitement, et comme résultat, sur 16 cas de charbon (pustule maligne ou œdème malin) traités depuis 1912, une mortalité nulle, tandis que les statistiques du traitement sérothérapique donnent une mortalité de 4 p. 100.

En 1925, Zoeller cultive dans une toxine diphtérique un bacille pyocyanique et filtre après culture; si la toxine employée était très active, il n'y avait pas d'atténuation de sa toxicité; au contraire, si la toxine était peu active, on notait une atténuation. Pour Duchon, une toxine diphtérique mise au con-

tact du bacille pyocyanique semble s'atténuer progressivement de jour en jour; c'est ainsi que si l'onensemencè du pyocyanose dans une toxine diphtérique Am P₈ et que, après treize jours d'étuvé, on filtre, 1 cc. du filtrat ne tue pas le cobaye.

En novembre 1925, Gessard, Fernbach et Rullier sont les premiers à étudier les modifications morphologiques du bacille tuberculeux en culture associé avec un bacille pyocyanique; ils montrent que ces B. K. deviennent granuleux, perdent peu à peu leur propriété acido-alcool-résistante en passant de la teinte rouge vif à la teinte rose pâle, puis en ne prenant plus que le bleu. Soumis au produit de filtration d'une culture pyocyanique, le B. K. a présenté les mêmes modifications morphologiques que dans les cultures faites en association avec le bacille pyocyanique.

En 1926, on doit signaler le rapport de Jausion et Biot au Congrès des dermatologistes à Anvers sur le traitement des pyodermites par des vaccins pyocyaniques; mais surtout l'important travail de Duchon sur la lyse des différents germes pathogènes par le bacille pyocyanique. Duchon pense que l'on s'est toujours beaucoup préoccupé des sécrétions du pyocyanique et beaucoup moins du bacille lui-même. Par une série d'expériences entreprises sur le streptocoque, il arrive à ce fait que la lyse est plus rapide et plus complète si le streptocoque se trouve en présence d'une culture non filtrée de pyocyanique plutôt que d'une culture filtrée. Pour lui, la lyse ne serait pas due à une propriété particulière de la pyocyanose proportionnelle à sa quantité, « mais d'une sécrétion du bacille lui-même ». Pour Duchon, les germes les plus rapidement lysés sont le pneumocoque, les diplocoques, Gram négatif. Les streptocoques et les diphtériques sont plus tenaces; ces bacilles persistent plus longtemps avec des aspects déformés, réduits à l'état de poussière chromatique, gardant très faiblement le Gram.

Dans sa thèse de Paris, Duchon donne d'excellents résultats obtenus par l'emploi de son lysat vaccin qui contient du

pyocyanique, et à la Société de biologie il communique la formule de ses lysats vaccins.

Poursuivant l'année suivante ses travaux, Duchon étudie le traitement des manifestations articulaires, de la blennorragie, le traitement de la pneumonie par ses lysats vaccins.

Cathala conteste les résultats de Duchon. Pour lui, l'adjonction de pyocyanique au vaccin de Duchon atténue le pouvoir antigénique du vaccin et il ne s'agit ici que d'un mode de protéinothérapie et de bactériothérapie sans spécificité.

Reilly et Rivalier pensent que les produits de sécrétion du bacille pyocyanique sont certes susceptibles de neutraliser des exotoxines et des endotoxines microbiennes, mais ils pensent aussi que la présence de ce bacille pyocyanique atténue, par ses sécrétions et par lui-même, le pouvoir antigénique.

Chatton montre que le pouvoir cytolytique du pyocyanique est le plus élevé parmi les bactéries chromogènes, et ce pouvoir paraît lié au pouvoir chromogène de la culture; il étudie les propriétés et la nature de cette cytolysine et il la différencie d'avec les pigments, les ferments et les protides.

Reprenant un point déjà discuté, étudié dès 1889, et admis par tous, l'Italien Fabris montre en 1926 l'antagonisme entre le bacille du charbon et le pyocyanique !

Dé 1927 à nos jours, l'étude du pouvoir antagoniste du pyocyanique et de son filtrat vis-à-vis des différentes bactéries se poursuit et se complète. En Italie, ce sont, en 1930, les travaux de Rigobello et de Bedarida. En France, Lomby et Duble montrent que la culture du bacille pyocyanique dans la toxine diphtérique n'atténue pas la toxine. Oesterlin fait une étude expérimentale avec du filtrat de pyocyanique, et il arrive à une classification des germes selon l'action de ce filtrat.

Si la question du filtrat de culture de pyocyanique est une question ancienne dont l'étude remonte à 1889, celle du filtrat de pneumobacille de Friedländer est de date beaucoup plus récente. En effet, ce n'est que vers 1920 que l'on note les

premières communications sur ce sujet. Les recherches faites jusqu'à ce jour ont porté exclusivement sur l'antagonisme entre le bacille diphtérique et pneumobacille. En 1921, Papacostas et Gaté expliquent l'antagonisme entre ces deux bacilles par le rôle empêchant de la toxine pneumobacillaire vis-à-vis de la sécrétion de la toxine diphtérique. Dans une première série d'expériences, ils prennent une toxine diphtérique et une toxine pneumobacillaire préparée à partir de culture en bouillon ascite. L'inoculation à un cobaye, soit des deux toxines séparées, soit de leur mélange récent, soit de leur mélange plus ancien, est toujours suivie par la mort de l'animal, donc la toxine pneumobacillaire ne neutralise la toxine diphtérique ni *in vivo* ni *in vitro*. Au contraire, dans une deuxième série d'expériences, si on cultive en même temps du diphtérique et du pneumobacille, le filtrat ne tue pas l'animal. Si onensemence du bacille diphtérique dans de la toxine pneumobacillaire, on note un développement moins rapide et moins abondant, le filtrat inoculé au cobaye ne le tue pas.

La même année, ces mêmes auteurs signalent l'antagonisme biologique entre ces deux bacilles. A la suite d'observations d'angines à bacilles de Loëffler et à pneumobacilles, ils ont pu constater que ces angines sont bénignes et que le bacille diphtérique reparait assez vite. Cultivant du pneumobacille sur sérum, raclant la culture et ensemençant du bacille diphtérique, ils constatent une culture très maigre.

Enfin, Bloomfield obtient une diminution très nette du nombre de bacilles diphtériques chez un porteur de germes par des pulvérisations de vaccins à base de pneumobacille.

En 1923, Papacostas et Gaté ont cherché si le bacille diphtérique non virulent peut atténuer le pneumobacille virulent, et ils ont constaté que l'antagonisme entre ces deux bacilles est unilatéral; le pneumobacille atténue le diphtérique, mais le bacille diphtérique n'agit pas sur le pneumobacille.

La même année, Lesbre étudie la destruction du bacille de Loëffler chez les porteurs sains par inoculation pharyngée de

pneumobacilles. Il badigeonne les loges sus-amygdaliennes avec une culture de pneumobacille sur gélose; le développement de ces bacilles est presque constant, et on note la disparition des bacilles diphtériques dans un délai de sept à douze jours. La méthode, essayée chez des convalescents, donna une disparition définitive des bacilles en sept jours; dans des cas d'angine diphtérique, la méthode a permis de réduire la durée d'isolement des porteurs de germes.

Deux ans plus tard, Heidelberger, Goebel et Avery essaient d'isoler la substance soluble et spécifique des cultures de bacilles de Friedländer; ils ont pu extraire un polysaccharide dépourvu de toutes traces de protéines.

En 1926, parurent de nombreux travaux sur cette question. Gaté, étudiant la « pneumobacillo-diphtérie », propose comme traitement de cette affection le lysat de culture pneumobacillaire riche en exotoxines. Megrail étudie la toxicité des filtrats de bacilles de Friedländer. Schoenholz essaie à son tour d'isoler les substances toxiques dans les cultures de pneumobacilles, sans y parvenir d'ailleurs.

De cet exposé il résulte que de nombreuses recherches ont été déjà effectuées sur l'action antimicrobienne des filtrats de culture de pyocyanique. L'étude des lysats n'a, par contre, retenu l'attention que de quelques auteurs, tels que Duchon, dont les résultats ont été d'ailleurs controversés. Quant au pneumobacille de Friedländer, l'étude de ses filtrats et plus encore de ses lysats est à peine ébauchée.

Aussi a-t-il paru à M. le Professeur agrégé Aubertin qu'il pourrait être intéressant de reprendre ces deux questions dont il nous a demandé de faire le sujet de notre thèse.

CHAPITRE II

**Préparations des lysats filtrats des bacilles
pyocyaniques et pneumobacilles
de Friedländer,**

Nous avons utilisé pour la préparation de nos lysats la technique préconisée par Besredka pour la préparation des antiviruses. Nous ne pensons pas du tout cependant avoir ainsi préparé des antiviruses pyocyaniques et pneumobacillaires dans le sens que Besredka attribue à ces principes. Et ceci pour deux raisons : la première, c'est que le pyocyanique et le pneumobacille poussent parfaitement, comme nous le verrons, dans leurs propres lysats filtrés, et la deuxième, c'est que ces lysats ne vaccinent pas contre leurs germes spécifiques. D'ailleurs, toute l'étude ci-dessous a pour but de mettre en évidence l'action antimicrobienne non spécifique de ces lysats.

I. — Lysats de pyocyaniques.

Dans un ballon de bouillon ordinaire au pH de 7,5, d'une contenance de 1 litre, on ensemence une souche de pyocyanique de 24 heures sur gélose, à pigment vert très marqué. Le ballon est porté à l'étuve à 37 degrés et tous les quatre à cinq jours, on l'agite afin de détruire le voile qui se trouve à la surface. Au bout d'un mois, le bouillon a pris une coloration jaune vert foncé; par agitation, il a un aspect glaireux et filant. Il est alors retiré de l'étuve.

On le filtre une première fois sur papier Chardin de façon à éliminer les stries gluantes, semblables à la gélatine d'œuf, qui nagent dans le bouillon.

Le filtrat recueilli dans un ballon stérilisé est alors soumis à une filtration sur bougie Chamberland L3 soigneusement vérifiée.

Le filtrat a une belle coloration jaune verdâtre à reflets irisés; il possède une odeur forte rappelant celle de la culture de pyocyanique.

Ce filtrat est recueilli dans des ampoules de verre de contenance variable, stérilisées au four Pasteur et qui sont, après remplissage, immédiatement scellées à la lampe.

Ces ampoules sont alors placées au bain-marie, enveloppées dans un linge et recouvertes largement par l'eau. Au début, nous chauffions ainsi pendant une heure à 57 degrés; mais, par la suite, nous avons pu constater que l'ébullition ne modifiait en rien la composition du filtrat et nous soumettions nos ampoules à 100 degrés pendant dix minutes.

Les ampoules retirées du bain étaient vérifiées au point de vue de leur stérilité par ensemencement dans du bouillon ordinaire et couchées à l'abri de la lumière, à la température du laboratoire en attendant leur emploi. Par le repos, dans toutes nos ampoules se formait un léger dépôt blanchâtre formé de fines particules et qui, par agitation, n'arrivait pas à troubler le filtrat.

II. — Lysats de pneumobacilles.

Nous opérons de la même façon que pour le pyocyanique et au bout d'un mois le ballon, qui avait une couleur jaune sale avec des grumeaux blanchâtres nageant dans le liquide, était filtré selon la technique citée plus haut.

Le filtrat, traité de la même façon que le filtrat de pyocyanique, se présente sous forme d'un liquide légèrement plus foncé que du bouillon ordinaire et possédant une légère odeur. Sa consistance est aqueuse, il est beaucoup moins dense que le filtrat de pyocyanique.

III. — Nature de ces lysats filtrats.

Ces deux liquides ne sont pas seulement des filtrats ordinaires. En effet, nous avons laissé les deux ballons à l'étuve pendant un mois, période pendant laquelle les bacilles ont

eu le temps de se lyser plus ou moins complètement. La preuve est donnée par le fait que si, au moment du filtrage, nous faisons un frottis sur lame avec coloration de Gram, on note bien quelques bacilles intacts, mais on voit surtout des débris bacillaires et des granulations. En tout cas, le nombre de germes bien visibles est très minime, ne rappelant en rien une culture en bouillon.

Donc, dans nos deux cas, nous avons affaire non à un filtrat, mais à un lysat filtrat des bacilles pyocyaniques et de pneumobacilles.

Ces deux produits résultent essentiellement de l'action de l'autolyse microbienne. Pour les obtenir, nous n'avons fait agir aucune substance chimique, ainsi que cela se fait pour la préparation de la pyocyanase par exemple. Il nous semble que ces deux produits diffèrent des nombreux principes extraits de ces deux bacilles et, pour la commodité de la rédaction, nous proposons de leur donner le nom de « pyocyanose » et de « pneumobacillose ».

En résumé, sous le nom de « pyocyanose », nous entendons désormais un lysat filtrat de culture d'un mois de bacille pyocyanique en bouillon ordinaire. Par « pneumobacillose », nous désignons de même un lysat filtrat de culture d'un mois de pneumobacille de Friedländer en bouillon ordinaire.

IV. — Caractères généraux de ces lysats filtrats.

a) Ph DE CES PRODUITS.

Ils oscillent entre 8 et 8,5 (nous les avons recherché par la méthode d'un indicateur coloré et nous avons employé « l'Universal Indicator »).

Comme nous devions ensemercer dans ces lysats filtrats une série de germes, nous avons pensé que seul ce pH élevé pouvait être rendu responsable de leur non-multiplication. Aussi avons-nous préparé du bouillon ordinaire à pH de 8,5

et nous y avoas ensemencé une série de germes, en même temps on ensemence les mêmes germes dans du bouillon au pH de 7,5. Après 6 heures d'étuve, on note déjà une culture dans quelques tubes pH 8,5; en 24 heures, tous les tubes ont abondamment poussé et même pour certains le développement est beaucoup plus marqué que dans le bouillon au pH de 7,5.

De ceci nous retenons que le pH de 8,5 ne gêne en aucune façon le développement de la plupart des germes.

b) RÉSIDU SEC.

Nous plaçons 100 cc. de pyocyanose dans une cupule de porcelaine stérilisée à côté d'une cupule renfermant de l'acide sulfurique pur, et le tout est placé sous la cloche à vide.

Au bout de dix jours, le liquide de la pyocyanose s'est évaporé, et il ne reste qu'un résidu brun noirâtre d'allure rappelant le caramel, de consistance très pâteuse. Au moyen d'une spatule métallique stérilisée on recueille ce résidu qui est pesé sur une balance de précision. Il nous donne un poids de 2 g. 10. Donc, puisque 100 cc. de pyocyanose nous donnent un résidu solide de 2 g. 10 après évaporation, dans 1 litre de pyocyanose il y a 21 grammes de résidu solide.

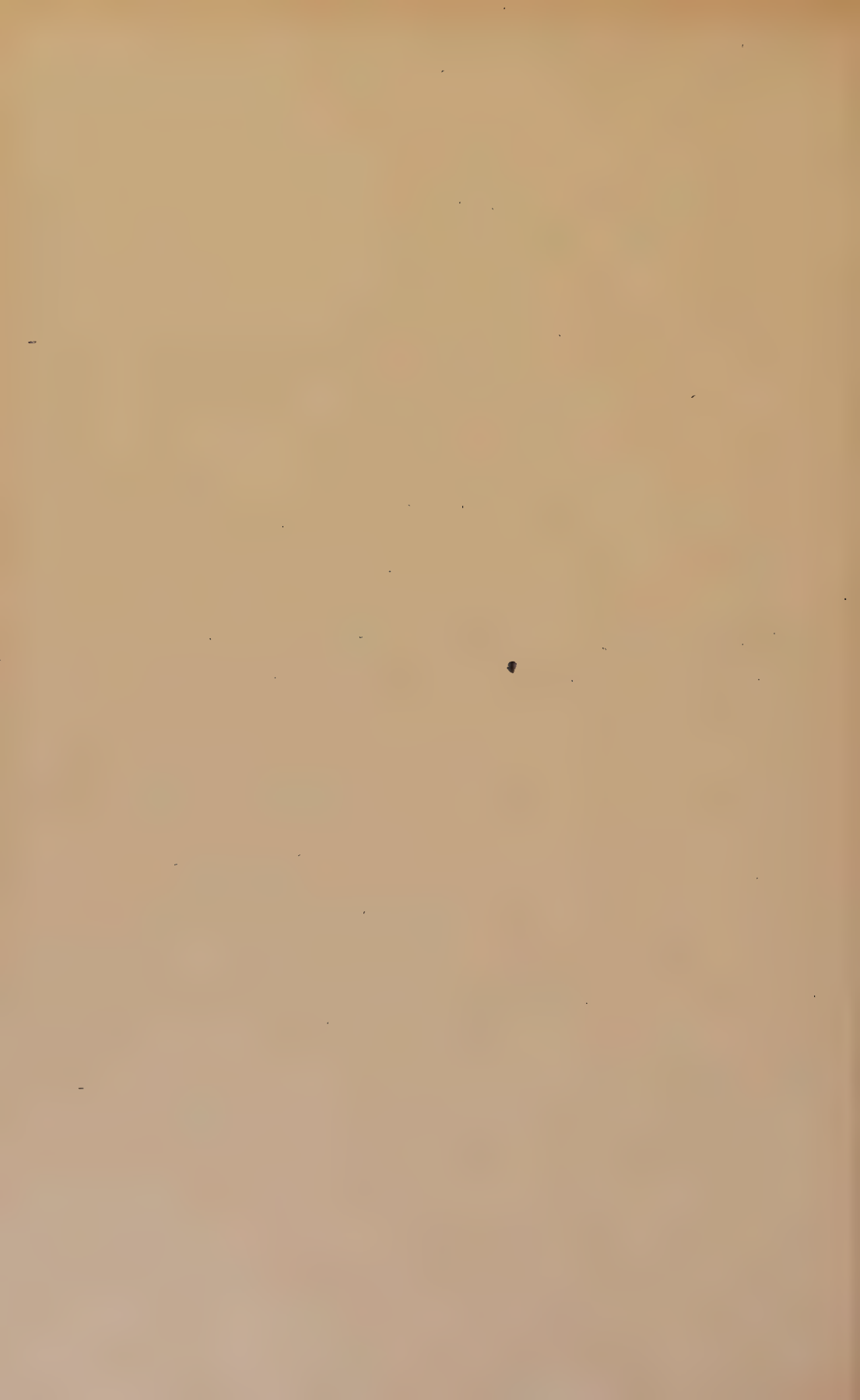
c) ACTION SUR LA GÉLATINE ET SUR L'ALBUMINE.

Dans un tube de gélatine en culot, nous versons de la pyocyanose; dans un autre tube, de la pneumobacillose. Le niveau inférieur du liquide est marqué sur le tube par un trait de lime. Au bout d'un mois, on ne constate aucun abaissement de ce niveau inférieur.

Au moyen d'une pipette à boule stérilisée, nous enlevons l'albumine d'un œuf que nous faisons prendre dans une boîte de Pétri, le contact de nos deux lysats filtrats n'attaque nullement cette gélatine.

CHAPITRE III

**Étude « in vitro » des actions antimicrobiennes
de la pyocyanose et du bacille pyocyanique.**



DE L'ACTION ANTIMICROBIENNE DE LA PYOCYANOSE

A. — *De la vitalité des germes ensemencés dans la pyocyanose.*

Dans une série de tubes à essai nous versons 5 cc. environ de pyocyanose et nous ensemençons dans ces tubes les germes suivants : staphylocoque doré, vibrion cholérique, micrococcus melitensis, bacille de Shiga, bacille de Flexner, diphtérique 591, diphtérique Am P8, diphtérique 42-37, typhique Guillaume, typhique Pb, paratyphiques A et B, entérocoque, bacillus subtilis, bacille de Morgan, bactérie charbonneuse, bacille de Gärtner, bacille pesteux, bacillus mesentericus, bacille pyocyanique, protéus X 19, bacille d'Aertricke, colibacille M, colibacille 33, streptocoque et pneumocoque (tous les ensemencements sont faits abondamment à partir de culture sur gélose de 24 heures, sauf pour le streptocoque qui est ensemencé à partir d'une culture en bouillon ascite).

Ces tubes sont portés à l'étuve et nous allons faire à partir d'eux, toute une série de repiquages en bouillon peptoné ordinaire. Ces repiquages ont été faits au début toutes les heures jusqu'à la 6^e heure, puis à la 12^e heure, après 24 heures, après 48 heures et même plus si cela est nécessaire. De cette façon, nous pouvons déterminer le temps nécessaire pour détruire le germe immergé dans la pyocyanose.

Tous ces repiquages sont faits à la pipette Pasteur stérilisée, et nous avons soin de prendre chaque fois une quantité

suffisante de pyocyanose pour avoir toujours plusieurs germes.

Avec cette méthode, nous obtenons les résultats suivants :

Après 1 heure de contact : aucun germe n'est détruit.

Après 2 heures de contact, sont tués :

- le vibron cholérique;
- le diphtérique Am P8;
- le diphtérique n° 42-37;
- le diphtérique n° 591.

Après 3 heures de contact : est détruit le micrococcus melitensis, les diphtériques Bastard-Ville, Marceau et Mercédès.

Après 4 heures de contact : le paratyphique A est tué.

Après 5 heures de contact : est tué le bacille de Shiga.

Après 6 heures de contact : est tué le bacille de Flexner.

Après 6 heures, on note de plus :

- une culture abondante pour staphylocoque, coli 33, colibacille pyocyanique, Aertricke et protéus X 19; une culture grêle pour les deux typhiques et pour le para B.

Après 24 heures de contact : les cultures de typhiques et de para B sont beaucoup plus grêles que celles de 6 heures, et les germes suivants sont détruits :

- Entérocoque;
- Streptocoque;
- Pneumocoque;
- Subtilis;
- Bacille de Morgan;
- Bactéridie charbonneuse.

Après 32 heures de contact : le paratyphique B est détruit; on note une culture très grêle de typhique.

Après 48 heures de contact, sont détruits : les bacilles de Gärtner et de la psittacose.

Après 56 heures de contact : le typhique Guillaume est tué.

La culture reste positive pour le typhique Pb, mais elle est très grêle.

Après 72 heures de contact : est détruit le bacille pesteux.

Après 100 heures de contact : est détruit le mesentericus.

Après 125 heures de contact : est détruit le typhique Pb⁽¹⁾.

Si on examine les tubes de pyocyanose ensemencés dix jours auparavant et si l'on ajoute dans chaque tube 5 cc. de bouillon ordinaire pH 7,5, on constate après 24 heures d'étuve que dans tous les tubes il ne repousse que les colibacilles, le staphylocoque, le pyocyanique, le protéus et le bacille d'Aertricke.

Par suite, nous considérons que les germes suivants ne sont pas détruits par la pyocyanose :

Pyocyanique;

Protéus X 19;

Aertricke;

Colibacilles;

Staphylocoque doré.

Ce fait que le pyocyanique continue à se développer dans son propre lysat vaccin peut surprendre au premier abord. Pourtant il donne une culture plus abondante qu'en bouillon ordinaire avec un voile très épais à la surface et un beau pigment vert. Ce seul fait nous montre que cette pyocyanose n'est pas l'antivirus pyocyanique puisque le germe s'y développe. Ce fait aussi nous permet d'être sceptique sur l'emploi des filtrats vaccins de culture de pyocyanique dans le traitement des affections suppurées où se trouve du pyocyanique et où ces vaccins sont employés localement. L'action thérapeutique recherchée n'est-elle pas illusoire ?

(1) Au sujet du gonocoque, nous devons signaler que M. le Docteur Moureau n'a pas pu faire pousser ce germe sur ses milieux habituels, imprégnés de quelques gouttes de pyocyanose.

TABEAU RECAPITULATIF

I. — GERMES DÉTRUITS EN PYOCYANOSE.

En 2 heures....	Vibron cholérique. Diphtérique long 591. Diphtérique moyen Am P8. Diphtérique court 42-37.
En 3 heures....	Micrococcus melitensis et diphtériques : Bastaud, Ville, Moreau, Mercédès.
En 4 heures....	Paratyphique A.
En 5 heures	Shiga.
En 6 heures....	Bacille de Flexner.
En 24 heures....	Entérocoque. Streptocoque. Pneumocoque. Subtilis. Bacille de Morgan. Bactéridie charbonneuse.
En 32 heures....	Paratyphique B.
En 48 heures....	Bacille de Gärtner. Bacille de la psittacose.
En 56 heures....	Typhique Guillaume.
En 72 heures	Bacille pesteux.
En 100 heures...	Mesentericus.
En 125 heures...	Typhique Pb.

II. — GERMES SE DÉVELOPPANT EN PYOCYANOSE.

Gram négatif ...	Protéus X 19. Pyocyanique. Bacille d'Aertricke. Colibacilles (2 souches).
Gram positif ...	Staphylocoque doré.

B. — *Etude des variations morphologiques des germes
ensemencés dans la pyocyanose.*

Pour avoir une idée de plus sur l'action de la pyocyanose sur les germes ensemencés, nous avons pensé qu'il était utile de les examiner au microscope sur frottis colorés par la méthode de Gram. Nous avons fait des frottis après 24 heures et après 48 heures de présence et nous avons fait contrôler nos résultats par M. le Professeur agrégé Aubertin, qui a bien voulu revoir nos frottis.

Nous avons obtenu pour chaque germe les résultats suivants :

Choléra :

Tandis que la forme bacillaire est tout à fait typique dans le bouillon ordinaire, dans la pyocyanose on ne trouve que des granulations Gram —, de grosseur très variable; il s'agit, à n'en pas douter, d'une lyse des bacilles.

Para B :

Après 24 heures : culture éclaircie, on trouve quelques bacilles normaux, à côté de bacilles courts, granuleux, et de granulations isolées.

Après 48 heures : on ne trouve que des formes très courtes, réduites le plus souvent à l'état de simples granulations qui donnent l'aspect d'une véritable chaînette de streptocoque. On ne trouve aucune forme filamenteuse, comme on peut en voir dans le tube témoin en bouillon ordinaire.

Para A :

Après 24 heures : Bâtonnet très court, granuleux, parfois des chaînettes de très petits bâtonnets.

Après 48 heures : Culture claire, clairsemée avec formes bacil-

laïres prenant volontiers l'aspect granuleux. Un certain nombre de granulations isolées.

Typhique Pb :

Après 24 heures : Culture éclaircie, peu de formes bacillaires, granulations isolées.

Après 48 heures : Culture très éclaircie, quelques rares bâtonnets et nombreuses formes granulaires.

Typhique Grill :

Après 24 heures : Cette souche semble moins atteinte que la précédente. On trouve de nombreux bacilles.

Après 48 heures : On ne trouve presque plus que des granulations.

Coli 33 :

Après 24 heures : Culture éclaircie, peu de modifications morphologiques.

Après 48 heures : Culture raréfiée, avec de nombreuses granulations. On trouve beaucoup plus qu'avec les autres germes des formes bacillaires qui paraissent intactes, mais dont plusieurs cependant présentent un aspect granuleux.

Colibacille :

Après 24 heures : La culture est plus éclaircie et les germes plus courts qu'en tube de bouillon ordinaire témoin.

Après 48 heures : Culture très grêle, avec une prédominance surtout de formes tout à fait petites, punctiformes, granuleuses.

Melitensis :

Après 24 heures : Modifications morphologiques peu importantes, les germes se présentent sous forme de points de taille variable, colorés uniformément en rouge.

Après 48 heures : On retrouve un coccus sous forme de points, semblant plus petits qu'à l'état normal. Il ne semble pas, cependant, que les modifications soient très importantes.

Shiga :

Après 24 heures : Germes rares, ceux qui restent sont rarement normaux, le plus souvent plus courts et plus minces que normalement et inégalement colorés.

Après 48 heures : Nombreuses granulations et formes très courtes. Les quelques formes longues qui restent ont l'aspect tout à fait granuleux.

Staphylocoque doré.

Après 24 heures : Culture simplement éclaircie. Certains germes paraissent toutefois plus petits.

Après 48 heures : Même aspect.

Diphtérique (dipht. court) :

Après 24 heures : En bouillon, diphtérique court. En pyocyanose, on trouve une culture clairsemée, mais des formes bacillaires typiques, encore fortement colorées en violet.

Après 48 heures : Les bacilles existent encore, mais prennent un aspect granuleux.

Après 72 heures : Formes bacillaires nettes très rares, nombreuses granulations mal colorées; par contre, on est frappé par un abondant dépôt pulvérulent de cristal violet. De nombreux Gram faits avec cette culture, soigneusement lavés longtemps et très refroidis, montrent toujours ce dépôt.

Après 5 jours : On ne trouve plus rien, sinon quelques granulations éparses, rosées, et le dépôt de cristal violet.

Am P8 (dipht. long) :

Après 24 heures : En bouillon, aspect typique du diphtérique long; en pyocyanose, les bacilles paraissent plus longs, plus grêles et très facilement décolorables.

Après 48 heures : Apparition du dépôt de cristal violet, on retrouve quelques paquets de diphtériques extrêmement grêles, des chapelets de grains punctiformes et à moitié décolorés.

Après 3 jours : On ne trouve que des granulations isolées et en chapelet. Pas de formes bacillaires visibles.

Diphthérique 42-37 (dipht. moyen) :

Après 24 heures : En bouillon, aspect typique du diphthérique moyen; en pyocyanosé, culture à peu près normale; toutefois, les bacilles paraissent plus grêles.

Après 48 heures : Culture éclaircie, de forme et d'aspect assez caractéristiques. A noter cependant de-ci de-là quelques formes granuleuses; les germes apparaissent comme entourés d'une espèce d'auréole réfringente.

Après 3 jours : On ne trouve plus rien.

Bacille de Flexner :

Après 24 heures : Culture éclaircie; on trouve de nombreuses formes bacillaires normales, quelques bacilles plus courts et de très rares granulations.

Après 48 heures : Le nombre des bacilles typiques a disparu; par contre, le nombre des granulations a augmenté; on trouve quelques bacilles plus courts que d'habitude à aspect granuleux.

Entérocoque :

Après 24 heures : La culture semble moins modifiée que les autres; on trouve des cocci Gram +, le plus souvent isolés, de taille normale et d'aspect normal. Toutefois, la culture est plus clairsemée.

Après 48 heures : Les cocci semblent identiques aux précédents.

Subtilis :

Après 24 heures : Culture maigre, bacilles normaux, à vacuole centrale et bacilles désagrégés; on voit de-ci de-là des granulations fortement colorées.

Bacille de Morgan :

Après 24 heures : Culture clairsemée, bacilles sous forme normale, mais surtout nombreuses granulations en chapelet et isolées. Quelques bacilles plus petits et plus grêles.

Après 48 heures : On ne trouve presque que des formes granuleuses et des granulations en amas ou isolées.

Charbon « Pont » :

Après 24 heures : On trouve de longues formes bacillaires typiques, avec des bâtonnets très courts, tous sporulés, quelques diplobacilles, et une difficulté pour le germe à garder le colorant.

Après 48 heures : Les bâtonnets sont presque uniquement courts, se colorant mal, à contenu désagrégé, avec des granulations donnant l'impression de ce qui reste d'une chaîne de bacilles. On trouve encore quelques spores, rares, qui semblent avoir perdu la faculté de se colorer par la méthode de Moeller (plusieurs essais de coloration spéciale n'ont donné aucun résultat); par contre, elles semblent avoir acquis la propriété de se colorer en Gram + par la méthode de Gram.

Bacille de Gärtner :

Après 24 heures : Quelques granulations isolées, mais surtout des bacilles courts, légèrement coccobacillaires, à coloration bipolaire.

Après 48 heures : Le nombre des granulations a augmenté, la culture s'est clairsemée, les formes bacillaires typiques sont plus rares.

Psittacose : Allure clairsemée de la culture, nombreuses formes normales, quelques granulations et des bacilles plus grêles et plus courts.

Bacille pesteux :

Après 24 heures : En bouillon, on ne trouve pas de formes coccobacillaires; par contre, de nombreuses formes en bâtonnets à bouts carrés, bien colorables uniformément. En pyocyanose, la culture est plus grêle, les bacilles moins épais et moins bien colorables, quelques formes granuleuses rares, mais pas de granulations isolées.

Après 48 heures : Même aspect.

Bacillus Mesentericus :

Après 24 heures : Allure typique d'un bacille sporulé.

Après 48 heures : Même aspect, plus quelques formes à granulations.

Protéus X 19 :

Culture raréfiée avec de nombreuses granulations. On trouve toutefois de nombreuses formes bacillaires typiques, mais dont certaines ont un aspect granuleux (examen après 48 heures seulement, le frottis après 24 heures a été cassé).

Bacille d'Aertricke :

Après 24 heures : Allure typique; culture formée de bacilles courts à coloration bipolaire, renflés à leurs centres.

Après 48 heures : Le nombre des bacilles a diminué, mais on ne voit pourtant pas de granulations, soit libres, soit incluses dans le bacille.

Bacille pyocyanique :

Cultive admirablement en « pyocyanose ». On retrouve au microscope tous les caractères morphologiques du germe. Long bâtonnet polymorphe, flexueux, avec quelques vacuoles. Pas de formes granuleuses, on devine que le bacille vit très bien en « pyocyanose ».

CONCLUSIONS. — Nous voyons que non seulement les germes sont tués, mais encore lysés; sur certains frottis, on assiste aux différents stades de cette désintégration débutant au bacille granuleux pour se terminer à la granulation isolée. Par contre, les germes qui se développent dans cette pyocyanose présentent des modifications très légères, sauf pour le pyocyanique qui offre l'aspect typique d'une culture de ce germe en bouillon ordinaire.

G. — *Etude de la mobilité des germes ensemencés dans la pyocyanose.*

Nous avons aussi voulu contrôler si la mobilité des germes était modifiée après un séjour en pyocyanose. Pour cela, nous avons ensemencé en pyocyanose les germes mobiles qui nous avaient précédemment servi.

Nous avons fait des examens, par la méthode de la goutte entre lame et lamelle, après un séjour de 24 heures et après un séjour de 48 heures.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

a) APRÈS 24 HEURES.

Colibacille. — La mobilité n'est pas modifiée.

Vibron cholérique. — On ne trouve aucune forme bacillaire mobile, les granulations paraissent être animées de mouvements browniens, mais ne se déplacent pas.

Paratyphique A. — Aucune forme mobile, pourtant on note des bâtonnets typiques immobiles.

Bacille de Morgan. — La mobilité du germe a totalement disparu.

Paratyphique B. — On note de nombreux bâtonnets encore mobiles et quelques granulations animées de mouvements browniens.

Bacille de Flexner. — Aucun bacille mobile et typique. On note des bacilles désagrégés et immobiles.

Bacille de Shiga. — Les formes bacillaires sont immobiles et on note comme pour le vibron cholérique de nombreuses granulations.

Pyocyanique. — La mobilité n'est pas modifiée.

Typhique Guillaume. — On trouve de nombreux bacilles présentant une mobilité comparable à celle du colibacille.

Bacille d'Aertricke. — Germe très mobile traversant avec rapidité le champ du microscope.

b) APRÈS 48 HEURES :

Colibacille. — Aucune modification de la mobilité.

Pyocyannique. — Aucune modification de la mobilité.

Bacille d'Aertricke. — Aucune modification de la mobilité.

Vibron cholérique. — On trouve uniquement des granulations animées de mouvements browniens.

Paratyphique A. — Le champ microscopique est formé de rares bacilles immobiles, de nombreux bacilles désagrégés et d'un certain nombre de granulations.

Paratyphique B. — Aucun bâtonnet mobile n'est aperçu; par contre, nous signalons de nombreux bacilles désagrégés et des granulations éparses dans le champ.

Bacille de Flexner. — Plus de bacilles, on voit simplement un semis de granulations.

Bacille de Shiga. — On note de très rares bacilles granuleux immobiles et un grand nombre de granulations en chapelet.

Typhique Guillaume. — Les bacilles semblent petits, légèrement mobiles et accompagnés de bacilles désagrégés immobiles.

CONCLUSION. — De ceci, il résulte que nous pouvons concevoir de la façon suivante l'action de la pyocynanose sur les germes mobiles.

Dans un premier temps, la mobilité disparaît; pourtant, à ce moment-là, les germes ne sont pas forcément détruits; dans un deuxième temps, les germes sont tués, et ce n'est que dans un troisième temps que la désintégration, et par conséquent la lyse, s'opère, se traduisant par l'existence de granulations.

Nous pouvons donc schématiser l'action de la pyocynanose sur la vitalité et la lyse des germes en écrivant :

- 1° Perte de la mobilité;
- 2° Destruction;
- 3° Désagrégation.

II

DE LA CULTURE DES GERMES SUR UNE CULTURE RACLEE DE BACILLES PYOCYANIQUES SUR GELOSE

De l'étude précédente, on voit qu'il existe dans le lysat filtrat du bacille pyocyanique un principe qui jouit de certaines propriétés empêchantes sur le développement de certains germes et destructives sur certains. Nous avons voulu voir si ce principe se communiquait à la gélose sur laquelle on avait cultivé ce germe; en un mot, si le développement d'une série de germes pouvait se faire normalement sur de la gélose préalablementensemencée avec du bacille du pus bleu et dont la culture avait été raclée avant le deuxième ensemencement.

Pour rechercher ce point, nous avons pratiqué les deux expériences suivantes :

I. — Une culture de bacilles pyocyaniques sur gélose de 48 heures est raclée soigneusement. Au moyen de sérum physiologique stérilisé, on lave, par deux fois, la surface du milieu. Ensuite, sur cette gélose, ainsi seulement raclée et lavée, et non portée à une température suffisante pour la stériliser, nous avons ensemencé les souches suivantes, chacune sur un tube : staphylocoque doré, subtilis, bacille typhique, paratyphique A, paratyphique B, pneumobacille de Friedländer, bacille pesteux, entérocoque, diphtérique Amp8 et 42-37, bacilles de la psittacose, de Morgan, de Gärtner, d'Aertricke, le protéus X 19, le colibacille M et le colibacille 33, la bactérie charbonneuse.

Dès leur ensemencement abondant, ces tubes sont portés à l'étuve. Après 24 heures de séjour à 37 degrés, on examine ces tubes et on ne constate dans aucun la trace de culture. Pourtant, à partir de ces tubes, on ensemence des tubes de gélose neuve qui nous présentent après 24 heures une belle coloration verte, avec culture abondante, que nous examinons par frottis colorés par la méthode de Gram, et on constate alors :

- 1° que le bacille pyocyanique se trouve abondamment dans tous les frottis;
- 2° on retrouve facilement l'entérocoque, le subtilis et le staphylocoque sur leurs frottis respectifs, associés au pyocyanique;
- 3° on ne retrouve pas les bacilles diphtériques;
- 4° pour les bacilles Gram négatif, on ne peut affirmer si l'on voit deux germes ou un seul.

De cette expérience, il résulte que :

la gélose sur laquelle avait poussé le bacille pyocyanique ne permet pas le développement de nouveaux germes encemencés sur elle; le milieu semble être « vacciné ». Pourtant les germes ne sont pas tués, puisque repiqués sur milieu ordinaire, ils donnent une belle culture. Seulement, cette expérience ne nous permet pas d'affirmer que cette propriété est due uniquement au produit qui a pénétré la gélose, car il reste à sa surface de nombreux bacilles pyocyaniques vivants.

II. — Nous allons donc faire disparaître ces bacilles vivants. Pour cela, comme auparavant, nous raclons une culture de pyocyanique sur gélose et lavons ce milieu, mais ensuite nous le soumettons à l'ébullition pendant 15 minutes, puis la gélose est mise à solidifier, les tubes en position inclinée. De la sorte, nous obtenons un milieu légèrement plus foncé que la gélose ordinaire, mais en tout cas bien moins vert qu'avant l'ébullition.

C'est sur ce tel milieu que nous allons ensemençer les mêmes souches que précédemment. Les tubes sont portés à l'étuve et examinés après 24 heures et après 48 heures de séjour à 37 degrés.

a) *Après 24 heures d'étuve*, on note :

1° Pas de développement apparent pour :

- Typhique;
- Bacille pesteux;
- Entérocoque;
- Paratyphique A;
- Protéus X 19;
- Subtilis;
- Staphylocoque;
- Diphthérique.

2° Une culture à peine visible pour :

- Bacille de la psittacose;
- Paratyphique B.

3° Une culture très grêle pour :

- Pneumobacille de Friedländer;
- Bacille de Morgan;
- Bacille d'Aertricke;
- Bacille de Gärtner;
- Colibacilles;
- Bactéridie charbonneuse.

Après un séjour de 24 heures à l'étuve, on peut constater que les tubes sur lesquels les germes ont poussé présentent tous des cultures minimales, ne rappelant en rien les traînées abondantes et épaisses obtenues avec ces germes sur gélose ordinaire. De plus, toutes ces cultures se ressemblent et sont constituées par de petites colonies placées les unes à côté des autres et rappelant assez bien l'allure d'une culture du bacille du rouget du porc sur gélose inclinée ordinaire.

b) *Après 48 heures d'étuve*, on note :

1° Pas de culture apparente pour :

Typhique;
Bacille pesteux;
Entérocoque;
Protéus X 19;
Subtilis;
Staphylocoques;
Diptériques.

2° Une culture très grêle pour :

Paratyphique A;
Paratyphique B;
Pneumobacille;
Bacille de Morgan;
Bacille d'Aertricke;
Colibacilles.

3° Une culture plus abondante, mais beaucoup moins cependant que sur gélose inclinée ordinaire pour :

Psittacose;
Bacille de Gärtner;
Bactéridie charbonneuse.

Donc après 48 heures d'étuve, on constate que certains germes n'arrivent pas à pousser sur cette gélose, que d'autres arrivent à donner quelques maigres cultures, très rares sont ceux qui arrivent à pousser à peu près normalement. De cette expérience découle donc la notion de gêne éprouvée par les germes ensemencés sur cette gélose. Les germes sont-ils tués ou à l'état de vie ralentie ? Par la suite, nous allons le montrer.

III. — A partir de ces tubes de gélose ensemencés, on fait des repiquages sur gélose ordinaire. Et après 24 heures d'étuve, on arrive à ce résultat que tous les germes ont abon-

damment poussés, sauf les deux diphtériques, qui ne donnent aucune culture.

Il résulte donc que le bacille diphtérique est tué par un contact avec la gélose sur laquelle a poussé du pyocyanique, tandis que les autres germes sont simplement gênés, retrouvant toutes leurs propriétés de développement dès qu'ils sont sur milieux ordinaires.

IV. — Par la méthode de Gram, nous avons examiné des frottis faits à partir des tubes de « gélose pyocyanée », commencés avec la série de germes. Nous avons obtenu les résultats suivants :

Bacille diphtérique Am P8 : On trouve de très rares bacilles granuleux se colorant mal.

Bacille diphtérique 42-37 : Aspect normal de ce bacille.

Bactéridie charbonneuse : Abondante culture classique.

Staphylocoque doré : Culture très grêle, cocci le plus souvent isolés ou en diplocoques, pas de grappes.

Entérocoque : Cocci en diplocoques, isolés, courtes chaînettes.

Subtilis : On retrouve quelques formes bacillaires très grêles, dissociées, granuleuses; certains bacilles se présentent sous l'aspect d'un chapelet de granulations.

Typhique : Quelques formes bacillaires typiques, un certain nombre de cocci.

Paratyphique A : On retrouve de nombreuses formes bacillaires avec formes d'involution longues et aspect en coccus. Quelques cocci groupés en grappe.

Paratyphique B : Germe très petit, quelques rares formes bacillaires.

Colibacille M et 33 : Culture abondante, formes bacillaires se colorant bien et formes bacillaires se colorant mal.

Protéus X 19 : On retrouve quelques germes complètement dissociés.

Bacille de la psittacose : Culture abondante, mais germe très fin et surtout très court.

Pneumobacille de Friedländer : Culture grêle, bâtonnet très fin, souvent formé d'un semis de granulations.

Bacille de Gärtner : Culture abondante, typique.

Bacille de Morgan : Aspect typique.

Bacille d'Aertricke : Bâtonnet très court, grêle, avec des formes se colorant mal.

Bacille pestueux : Culture très grêle, bâtonnets très rares, granuleux, paraissant dissociés, présentant certains une portion très colorée et une portion à peine visible (à l'état habituel, notre bacille pestueux se présente sous la forme de bâtonnets et non de coccobacilles):

Lorsque ces mêmes germes sont ensemencés dans la pyocyanose pure, dans l'ensemble les modifications morphologiques sont plus accusées; d'ailleurs, ici, les germes ne sont pas tués.

CONCLUSIONS. — Au contraire, tandis qu'immergés dans la pyocyanose les germes sont tués, déposés à la surface d'un milieu imprégné de produits de sécrétion du bacille pyocyanique ensemencé depuis 48 heures, ils ne se développent pas d'une façon apparente, mais ne sont pas tués, même lorsque le pyocyanique reste vivant à leur contact.

III

ETUDE PARTICULIERE DES ACTIONS ANTAGONISTES EXERCEES PAR LE BACILLE PYOCYANIQUE CONTRE LE BACILLE DE LOEFFLER

Dans l'étude précédente, nous avons vu que les bacilles diphtériques sont parmi les germes les plus rapidement tués lorsqu'ils sont immergés dans la pyocyanose. En effet, un contact de 2 heures est suffisant pour amener leur destruction. De plus — fait très important — nous avons vu que du bacille diphtérique ensemencé sur un tube de culture raclée du pyocyanique ne s'y développe pas. Cette grande sensibilité du bacille de Loëffler vis-à-vis des produits de sécrétion du bacille du pus bleu nous a conduit à étudier de plus près la question diphtérique et pyocyanique. D'ailleurs, cette question avait subi un début d'étude à la suite des travaux de Muhsam, de Schlippe, d'Escherich, étudiant surtout les conséquences pratiques au point de vue de la stérilisation des porteurs de germes. Quant à la toxine diphtérique étudiée dans ses rapports avec le bacille pyocyanique, on arrivait à des résultats opposés avec les recherches de Zoeller, de Duchon et de Lonvy Duble.

C'est pour cette double raison, grande sensibilité du bacille diphtérique vis-à-vis de la pyocyanose et résultats opposés déjà obtenus, que nous avons repris cette question et que nous avons pratiqué les deux sortes de recherches suivantes :

α. Dans la première, nous avons essayé d'exalter l'antagonisme du bacille pyocyanique pour le bacille diphtérique, en entraînant le premier à vivre aux dépens du second.

β . Dans la deuxième, nous avons étudié l'action du bacille pyocyannique et de la pyocyhanose sur la toxine diphtérique.

A. — *Expériences tendant à exalter les propriétés antagonistes de la pyocyhanose vis-à-vis du bacille diphtérique, en préparant cette pyocyhanose à partir d'une souche longuement entraînée à vivre aux dépens de cultures de bacilles diphtériques.*

La pyocyhanose préparée avec du bacille pyocyannique ordinaire est douée d'un pouvoir destructif marqué sur le bacille diphtérique. M. le Professeur agrégé Aubertin nous a conseillé de voir si, en cultivant du pyocyannique sur des cultures déjà poussées de diphtériques, on n'augmenterait pas le pouvoir antagoniste du pyocyannique vis-à-vis du diphtérique. Pour cela nous avons pris une souche de pyocyannique, qui fut d'abordensemencée sur une culture récente de bacilles diphtériques, et, tous les deux jours, nous avons repiqué ce bacille pyocyannique sur des cultures fraîches de bacilles diphtériques.

a) TECHNIQUE.

Nous avons conduit notre expérience de la façon suivante : nous avons commencé par ensemencer du diphtérique Am P8 sur quatre tubes (tubes n° 1) :

bouillon ordinaire;
bouillon Martin;
gélose inclinée;
sérum coagulé.

Sur quatre autres tubes, nous ensemençons de même notre souche de pyocyannique (tubes a).

Deux jours après, nous repiquons le diphtérique des tubes 1 sur des nouveaux tubes 2. Les quatre tubes 1 sont ensuite ensemencés avec les cultures homologues de bacilles pyocyaniques des tubes a.

A partir de ce moment, nous disons que la culture des tubes 1 a été « pyocyanée ».

On répète cette opération deux jours après avec les tubes 2, que l'on repique sur des tubes 3, et sur ces tubes 2 on greffe le pyocyanique des tubes 1, qui vient ainsi de vivre deux jours avec du diphtérique. Nous répétons la même opération tous les deux jours pendant un mois.

Pendant tout ce mois le même bacille pyocyanique a donc été transmis régulièrement tous les deux jours sur des cultures fraîches de bacilles diphtériques.

b) EXAMEN DES CULTURES

DE BACILLES DIPHTÉRIQUES « PYOCYANÉES ».

Ce bacille pyocyanique ainsi porté au contact d'une culture de bacilles diphtériques va se développer normalement. Dans presque tous les cas, nous avons toujours obtenu, après 24 heures d'étuve, un pigment abondant. Environ dix jours après l'apport du pyocyanique, les tubes de sérum commencent à se liquéfier.

Si, au cours de ces cultures, nous faisons des frottis colorés par la méthode de Gram, nous constatons :

1° Au début de l'expérience, c'est-à-dire 48 heures après avoir été pyocyanée, la culture est formée par de nombreux bacilles diphtériques intacts et par de nombreux pyocyaniques restant toujours de petite taille.

2° A la fin de l'expérience, c'est-à-dire après un mois, on ne trouve, au contraire, que des bacilles pyocyaniques dégradés, avec quelques rares formes filamenteuses, et de nombreuses granulations violettes, sans doute le vestige des bacilles diphtériques.

Par suite de l'examen de ces frottis, on peut déduire que la lyse n'est pas précoce, et que, par suite, la pyocyanose agit beaucoup plus rapidement sur le bacille de Loëffler que ne le fait le bacille pyocyanique lui-même.

Une autre preuve nous en est donnée par ce fait qu'après 48 heures de contact nous avons pu séparer les deux germes

et obtenir le bacille diphtérique à l'état vivant, alors que ce microbe est tué, comme nous l'avons vu, en 2 heures quand il est immergé dans de la pyocyanose.

D'où cette conclusion que le bacille pyocyanique n'agit pas tant par lui-même que par ses produits de lyse vis-à-vis du bacille diphtérique.

c) ACTION SUR LE BACILLE DIPHTÉRIQUE DE LA PYOCYANOSE OBTENUE A PARTIR DE BACILLES PYOCYANIQUES ENTRAÎNÉS A POUSSER SUR DES CULTURES DE BACILLES DIPHTÉRIQUES.

La pyocyanose ordinaire détruit en 2 heures les diphtériques Am P8, 591 et 42-37, qui sont trois vieilles souches conservées au laboratoire. Les souches d'isolement récent sont détruites en 3 heures. Nous avons voulu voir si une pyocyanose préparée à partir de bacilles pyocyaniques entretenus pendant un mois sur une culture de diphtérique n'est pas douée d'un pouvoir plus actif vis-à-vis de ce germe.

Nous avons donc préparé suivant la technique décrite dans un chapitre antérieur une pyocyanose avec le bacille pyocyanique précédent. Ce lysat filtrat, au point de vue de son aspect, ne diffère en rien de la pyocyanose ordinaire, sa couleur est la même, son pH est de 8,5. Nous la répartissons en tubes stérilisés, qui vont nous servir ultérieurement.

Nous avons expérimenté cette pyocyanose spéciale sur six souches, les deux anciennes étiquetées 591 et 42-37 et quatre nouvelles souches provenant de l'identification des angines diphtériques faites à l'Institut Pasteur de Bordeaux les jours précédents et que nous avons étiquetées, d'après le nom du malade, en diphtérique Mercédès, diphtérique Marceau, diphtérique Ville et diphtérique Bastard, les deux dernières étant beaucoup plus pathogènes que les deux précédentes.

Nous avons ainsiensemencé abondamment à l'anse de platine ces six souches dans six tubes de cette pyocyanose. Pour serrer le problème, nous avons fait tous les quarts d'heure des repiquages, à la pipette Pasteur, en bouillon ordinaire.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Après 1/4 d'heure de contact : aucun germe n'est tué.

Après 1/2 heure de contact : résultat identique.

Après 3/4 d'heure de contact : Les deux vieilles souches 591 et 42-37 sont détruites. Le développement est normal pour les autres tubes.

Après 1 heure de contact : Même résultat.

Après 1 h. 1/2 de contact : la culture est négative pour le diphtérique Mercédès et reste positive pour les trois autres.

Après 2 heures de contact : la culture en bouillon devient négative pour le diphtérique Marceau.

Après 2 h. 1/2 de contact : la culture devient négative pour les diphtériques Ville et Bastard.

Ces résultats sont revus après 24 heures et 48 heures d'étuve. Ils restent rigoureusement les mêmes. Seuls les tubes qui présentaient une culture après un jour d'étuve sont positifs.

Germes.	Contact en pyocyanose.						
	15'	30'	45'	1 h.	1 h. 30	2 h.	2 h. 30
Diphtérique 591.	+	+	—	—	—	—	—
Diphtérique 42-37.	+	+	—	—	—	—	—
Diphtérique Mercédès ..	+	+	+	+	—	—	—
Diphtérique Marceau ...	+	+	+	+	+	—	—
Diphtérique Ville.....	+	+	+	+	+	+	—
Diphtérique Bastard.....	+	+	+	+	+	+	—

CONCLUSION :

1° Nous retrouvons ici le résultat déjà obtenu avec la première pyocyanose, à savoir que les différents bacilles diphtériques ne sont pas tous détruits dans le même temps. Ici encore nous constatons que les souches les plus anciennes, celles qui sont conservées depuis longtemps au laboratoire et repiquées un grand nombre de fois, sont détruites les premières. Celles qui résistent le mieux sont les souches fraîchement isolées.

Avec la pyocyanose préparée avec du bacille pyocyanique ayant été repiqué fréquemment sur du bacille diphtérique, on voit très bien que ce lysat filtrat agit d'autant moins bien que le pouvoir pathogène du germe est plus élevé.

2° Dans l'ensemble, cette pyocyanose agit mieux que la pyocyanose ordinaire, puisqu'elle tue les souches anciennes en 1 h. 30 de moins de contact, et les souches nouvelles — selon la toxicité du germe — en 30 minutes à 1 h. 30 de moins.

Nous pouvons donc conclure en disant que cette pyocyanose est douée d'un pouvoir antagoniste plus élevé vis-à-vis du bacille diphtérique.

B. — Action du bacille pyocyanique et de la pyocyanose sur la toxine diphtérique.

De l'étude antérieure de cette question, on doit retenir trois noms : ceux de Zoeller, de Lonvy-Duble et de Duchon. Pour ce dernier, la toxine diphtérique mise au contact de pyocyanique semble s'atténuer progressivement. Treize jours d'étuve seraient suffisants à une culture de bacilles pyocyaniques dans de la toxine préparée avec de l'Am P8 pour enlever le pouvoir toxique. Pour Lonvy et Duble, la culture du bacille pyocyanique dans la toxine diphtérique n'atténue pas cette dernière. Pour Zoeller, si l'on cultive du pyocyanique dans une toxine ayant un pouvoir toxique élevé, on n'obtient pas d'atténuation; tandis que si la toxine qui sert à la culture est peu active, on obtient une atténuation.

Devant ces contradictions, nous avons tenu à répéter ces recherches et à les compléter en essayant de voir ce que peut faire sur la toxine diphtérique, non seulement le bacille pyocyanique, mais aussi son lysat filtrat, c'est-à-dire notre pyocyanose.

Pour cela, nous avons réalisé les quatre expériences suivantes avec une toxine diphtérique stabilisée provenant de

l'Institut Pasteur de Bordeaux et tuant le cobaye au 1/500 en 60 heures environ.

EXPÉRIENCE I.

Dans un ballon stérilisé, on verse 50 cc. de toxine diphtérique et 50 cc. de pyocyanose préparée fraîchement. On porte le ballon à l'étuve. Au bout de treize jours, ce mélange, retiré de l'étuve, a conservé sa limpidité du début. On fait une dilution au 1/250, de façon que la toxine soit diluée au 1/500.

1 cc. de cette dilution est injecté sous la peau de l'abdomen d'un cobaye. L'animal meurt en 70 heures.

En résumé : le mélange en proportion égale de pyocyanose et de toxine diphtérique maintenu à l'étuve pendant treize jours ne modifie pas le pouvoir toxique.

EXPÉRIENCE II.

Dans un ballon stérilisé, on verse 25 cc. de toxine diphtérique et 25 cc. de pyocyanose fraîche. Le ballon est laissé dans une armoire à la température du laboratoire. Au bout de treize jours, on refait sur le cobaye la même expérience que précédemment. L'animal meurt en 56 heures environ.

En somme : pas d'atténuation de la toxine diphtérique.

EXPÉRIENCE III.

Dans un ballon de toxine diphtérique, on ensemence la souche ordinaire de pyocyanique P_{éa}. Dès le lendemain, on constate une abondante culture de pyocyanique, avec beau voile à la surface et beau pigment vert tendre très abondant. Les jours suivants, la culture ressemble à une culture de pyocyanique de même date en bouillon ordinaire; le contenu du ballon, qui garde une coloration toujours vert tendre, prend la consistance glaireuse habituelle. A l'examen sur frottis par la méthode de Gram, on y retrouve l'aspect ordinaire filamenteux et vacuolé d'une vieille culture de bacilles pyocyaniques. Ce ballon est laissé à l'étuve pendant treize jours. Au bout de treize jours, on filtre, sur bougies L3, le filtrat

a la couleur, la consistance, l'odeur et le pH de la pyocyanose ordinaire. Injecté au cobaye :

- à la dilution de 1/500, 1 cc. ne tue pas le cobaye;
- à la dilution de 1/250, 1 cc. ne tue pas le cobaye;
- à la dilution de 1/100, 1 cc. tue le cobaye en 50 heures environ.

Si, au lieu de laisser la culture de pyocyanique dans la toxine diphtérique treize jours à l'étuve, on la laisse se poursuivre pendant un mois, 1 cc. de ce filtrat ne tue plus le cobaye.

De ceci, il résulte que la toxine diphtérique dans laquelle on cultive du pyocyanique subit une atténuation déjà marquée si la culture a lieu pendant treize jours, totale si la culture se prolonge pendant un mois.

EXPÉRIENCE IV.

Ces expériences précédentes ayant nécessité le séjour de toxine diphtérique à l'étuve, on peut se demander si, indépendamment de tout autre facteur, ce seul séjour à l'étuve n'est pas suffisant pour atténuer la virulence.

Pour cela, laissant un ballon de toxine à l'étuve, nous avons constaté, par inoculation au cobaye, qu'après treize jours 1 cc. d'une dilution au 1/500 tuait l'animal en trois jours. Après un mois, 1 cc. d'une dilution au 1/250 tuait encore l'animal en 50 heures.

Par suite, si la toxine a été atténuée, elle le doit au bacille pyocyanique et non au séjour à l'étuve.

CONCLUSIONS :

1° Nous avons vu que la pyocyanose tue rapidement le bacille diphtérique; par contre, les expériences I et II montrent qu'elle n'atténue pas la toxine diphtérique.

2° Au contraire, nous avons vu plus haut que le bacille pyocyanique ne tue le bacille diphtérique qu'à la longue et beaucoup moins rapidement que la pyocyanose. Par contre, il neutralise la toxine diphtérique beaucoup plus rapidement que la pyocyanose.

APERÇU SUR LE MECANISME DES ACTIONS ANTIMICROBIENNES DE LA PYOCYANOSE ET DU BACILLE PYOCYANIQUE

1° Pour expliquer le mode d'action de la pyocyanose, nous avons voulu rechercher s'il ne s'agissait pas d'un principe lytique ayant des analogies avec le principe bactériophagique. Pour cela, nous avons pratiqué l'expérience suivante :

On prend 3 tubes de bouillon ordinaire. Dans le premier, on ajoute X gouttes de culture de bacille typhique en pyocyanose et on ensemence ce tube avec le même bacille typhique. On fait la même opération pour les diphtériques et les dysentériques. Après 24 heures d'étuve, on note une abondante culture dans les trois tubes.

S'il s'était développé dans la pyocyanose ensemencée avec un germe donné un principe lytique analogue à celui du bactériophage, il est à présumer que ce principe, transmis dans le bouillon frais, aurait empêché le développement dans ce dernier du germe spécifique. Nous pouvons donc conclure que la lyse observée sous l'influence de la pyocyanose s'effectue par un mécanisme très différent de celui de la bactériophagie.

2° Il est digne de remarque que c'est surtout la pyocyanose, produit d'autolyse des bacilles pyocyaniques par séjour à l'étuve pendant un mois, qui exerce une action antimicrobienne sur certains germes. Lorsque ceux-ci sont déposés sur une gélose ensemencée 48 heures auparavant avec du bacille pyocyanique, puis raclée, les germes sont surtout gênés dans

leur développement, mais peuvent rester vivants beaucoup plus longtemps que lorsqu'ils sont traités par la pyocyanose. Enfin, l'exemple du bacille diphtérique nous a montré que ce germe, très sensible à l'action de la pyocyanose, — sensible encore à l'action de la gélose récemment pyocyanée, — peut vivre cependant pendant 48 heures en contact avec le pyocyanique, pourvu qu'il ait eu le temps de se développer sur le milieu de culture avant que ce dernier ne soit secondairement ensemencé de pyocyanique. Tous ces faits nous montrent que l'action antagoniste exercée directement par le bacille pyocyanique vivant sur divers germes est assez faible, que celle de ses produits de sécrétion est plus marquée, mais que ce sont surtout les produits d'autolyse de ce microbe qui exercent une action microbicide et lytique sur certaines bactéries.

3° Cette action microbicide et lytique, plus ou moins rapide suivant les germes, ne peut être obtenue qu'à la condition de faire agir une grande quantité de pyocyanose. L'introduction d'une minime quantité de pyocyanose dans une culture ne gêne pas, en effet, le développement de celle-ci.

4° Ce fait pourrait amener à penser que l'action microbicide de la pyocyanose est due simplement à l'épuisement des propriétés nutritives de ce milieu. Mais tel n'est certainement pas le mécanisme de son action, car on ne pourrait expliquer ainsi la lyse secondaire qui se produit si vite pour certains germes, et surtout la rapidité avec laquelle quelques microbes sont tués (de 45 minutes à 2 heures, par exemple, pour le bacille diphtérique).

L'épuisement en substances nutritives de la pyocyanose n'est d'ailleurs pas très marqué, puisque le bacille pyocyanique peut se développer à nouveau dans son propre lysat. Tout au plus ce facteur peut-il empêcher la pullulation de certains germes seulement, qui se développent à nouveau quand on additionne la pyocyanose de bouillon frais; mais il s'agit là de microbes sur lesquels la pyocyanose n'exerce aucune action destructive.

5° Il résulte de tous ces faits que l'action microbicide et lytique des lysats filtrats de culture des bacilles pyocyaniques est liée à des produits de lyse de ce microbe dont la nature nous est inconnue. Il ne s'agit d'ailleurs pas d'un principe analogue à celui que Besredka a désigné sous le nom d'anti-virus, puisque son action antagoniste n'est pas spécifique.

CHAPITRE IV

**Étude « in vitro » des actions antimicrobiennes
de la pneumobacillose et du pneumobacille
de Friedländer.**

DE L'ACTION ANTIMICROBIENNE DE LA PNEUMOBACILLOSE

*A. — De la vitalité des germes ensemencés
dans la pneumobacilliose.*

Nous avons utilisé la même technique que pour la pyocyanose, c'est-à-dire que nous avons ensemencé notre série de germes dans ce lysat filtrat de culture de pneumobacilles. Nous avons pratiqué à des intervalles réguliers des repiquages dans du bouillon ordinaire, afin de voir si les germes succombent après un séjour dans ce milieu, et, dans ce cas, après combien de temps.

Nous avons étudié les germes suivants :

Gram positif : Staphylocoque doré, streptocoque M, bacillus subtilis et mesentericus, bactériidies charbonneuses « or » et « A », 9 souches de bacilles diphtériques.

Gram négatif : Colibacille Mattet, colibacille 33, typhique « Yvonne », typhique « Barche », typhique « Pigeon », paratyphiques A et B, pyocyanique 29, pyocyanique Pea, pneumobacille, vibron cholérique, protéus X 19, bacille de Shiga, bacille de Strong, bacille de Morgan, bacille d'Aertricke, bacille présumé de la psittacose, bacille pestueux, micrococcus melitensis, micrococcus abortus, bacille de Gärtner.

Nous avons ensemencé cette série de germes dans des tubes de pneumobacilliose fraîchement préparée et de pH 8,5. Nous avons fait toutes les heures des repiquages en bouillon pep-

toné ordinaire, sauf pour le streptocoque, qui est repiqué en bouillon ascite. A dessein, nous avons expérimenté sur différentes souches d'un même microbe. Nous avons cherché notamment si l'action de la pneumobacilliose est identique sur les vieilles souches et sur les nouvelles souches. C'est ainsi que nous avons utilisé trois souches de bacilles typhiques qui nous avaient été données par M. le Docteur Moureau et provenaient de récentes hémocultures. La souche de charbon « A » avait été isolée quelques jours auparavant à l'Institut Pasteur de Bordeaux par M. le Professeur agrégé Aubertin.

Après une heure de contact, furent détruits :

Micrococcus melitensis;

Micrococcus abortus;

Bacille pesteux;

Streptocoque M;

Les 9 souches de bacilles diphtériques.

On constate de plus que deux germes sont gênés dans leur développement. C'est ainsi que le charbon « or » repiqué en bouillon nécessite 72 heures d'étuve pour donner une culture apparente et que le bacille de Shiga demande deux jours d'étuve pour « repartir » en bouillon ordinaire.

Les heures suivantes, tous les repiquages faits ne montrent aucune modification, et il nous faut arriver à 24 heures de contact en pneumobacilliose pour voir détruire :

le bacille de Shiga;

le bacille de Strong;

la bactériodie charbonneuse « or »;

Trente-six heures de contact avec la pneumobacilliose sont nécessaires pour détruire le charbon « A ».

On voit que le nombre de germes détruits par le lysat filtrat de pneumobacille est peu élevé, contrairement à ce que nous avons obtenu avec la pyocyanose. Cinq germes, cependant, se détachent franchement des autres, à ce point de vue, puis-

qu'il suffit d'une heure pour les tuer. Pour serrer le problème, nous avons repris ces germes ensemencés en pneumobacillose et nous avons pratiqué des repiquages en bouillon ordinaire, tous les quarts d'heure.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Après 15 minutes de contact : aucun germe n'est détruit.

Après 30 minutes de contact, le bacille pesteux est tué.

Après 45 minutes de contact, sont détruits :

Micrococcus melitensis;

Micrococcus abortus;

Streptocoque « M »;

Diphtérique Am P8;

Diphtérique « Mercédès ».

Diphtérique « Marceau »;

Diphtérique 42-37;

Diphtérique 591.

Après une heure de contact, sont détruits :

Diphtérique « Bastard »;

Diphtérique « Ville »;

Diphtérique « Col »;

Diphtérique « Gonin ».

Nous avons continué à examiner pendant dix jours les tubes de pyocyanose ensemencés. Les germes vivants après 36 heures de contact le restent ultérieurement, bien qu'ils ne cultivent pas dans ce milieu. Au bout de dix jours, cependant, nous avons ajouté à tous les tubes 5 cc. de bouillon peptoné ordinaire au pH de 7,5. Ces tubes sont reportés à l'étuve, et on constate, après un séjour de 24 heures, une culture abondante pour tous les tubes, sauf, bien entendu, pour le bacille pesteux, les bacilles diphtériques, les bacilles de Shiga et de Strong, les *micrococcus abortus* et *melitensis*, le streptocoque M, les bactériidies charbonneuses « or » et « A ».

Par suite, nous considérons comme non détruits par la pneumobacilliose les germes suivants :

- c) *Gram positif* : staphylocoque, bacillus subtilis et mesentericus.
- b) *Gram négatif* : colibacilles, bacilles typhiques et paratyphiques, pyocyanique, pneumobacille, vibrion cholérique, protéus X 49, bacilles de Morgan, d'Aertricke, de Gärtner et le bacille présumé de la psittacose.

Des recherches précédentes, nous pouvons conclure :

1° que le nombre des germes sensibles à la pneumobacilliose est peu élevé, mais que, par contre, le temps d'immersion dans ce lysat filtrat est toujours peu élevé pour détruire les germes sensibles à son action.

2° Nous retenons déjà la grande sensibilité du bacille diphtérique, en général, pour la pneumobacilliose.

3° Nous voyons que la pneumobacilliose n'agit pas également sur tous les bacilles de Loëffler, puisque certains sont tués en 45 minutes et d'autres en 1 heure. Nous signalons toutefois que la différence de 15 minutes est assez faible.

Pour résumer l'expérience précédente, nous pouvons dresser le tableau suivant en répétant pour la pneumobacilliose ce que nous avons déjà dit pour la pyocyanose, à savoir que le filtrat lysat n'est pas l'antivirus du pneumobacille, puisque nous avons vu que ce dernier y cultive admirablement.

Action de la pneumobacilliose sur les germes.

TABLEAU RECAPITULATIF

I. — GERMES DÉTRUITS EN PNEUMOBACILLOSE.

- En 30 minutes .. Bacille pesteux.
- En 45 minutes .. Micrococcus melitensis.
Micrococcus abortus.
Streptocoque M.

- En 45 minutes .. Diphtérique Am P8.
Diphtérique « Mercédès ».
Diphtérique « Marceau ».
Diphtérique 42-37.
Diphtérique 591.
- En 60 minutes .. Diphtérique « Bastard ».
Diphtérique « Ville ».
Diphtérique « Col ».
Diphtérique « Gonin ».
- En 24 heures ... Bactéridie charbonneuse « or ».
Bacille de Shiga.
Bacille de Strong.
- En 32 heures ... Bactéridie charbonneuse « A ».

II. — GERMES SE DÉVELOPPANT EN PNEUMOBACILLOSE.

- b) Gram négatif . Staphylocoque doré.
Bacillus subtilis.
Bacillus mesentericus.
- a) Gram positif . Colibacille.
Typhiques et paratyphiques.
Pyocyanique.
Pneumobacille.
Vibrion cholérique.
Protéus X 19.
Bacille de Morgan.
Bacille d'Aertricke.
Bacille de Gärtner.
Bacille de la psittacose.

B. — *Etude des variations morphologiques des germes ensemencés dans la pneumobacillose.*

Notre série de germes étant ensemencée dans des tubes de pneumobacillose, nous avons fait, après 24 heures et 48 heures de présence à l'étuve, des frottis que nous avons examinés par la méthode de Gram.

a) GERMES DÉTRUITS EN PNEUMOBACILLOSE.

Bacille pestueux :

Après 24 heures de contact, on ne trouve que quelques bâtonnets épais, plus ou moins granuleux, se colorant fort mal, et un grand nombre de granulations roses, groupées ou isolées (le bacille pestueux cultivé sur milieux usuels se présente sous forme de bâtonnet et non de coccobacille).

Micrococcus melitensis :

Après 24 heures, aspect ordinaire d'une culture de *micrococcus melitensis*, toutefois il semble que les germes fixent moins électivement les colorants.

Après 48 heures, pas de modifications surajoutées.

Micrococcus Abortus :

Même aspect que pour le *Melitensis*.

Diphthérique Am P8 :

Après 24 heures, on voit encore de-ci de-là quelques paquets de bacilles grêles, mal colorés, mais on trouve surtout des granulations, isolées ou en chapelet.

Après 48 heures, on ne trouve plus de forme bacillaire, le frottis n'est constitué que par des granulations isolées ou en ligne, se colorant mal en violet.

Streptocoque :

Après 24 heures, on ne voit déjà presque plus de chaînettes, mais de nombreux diplocoques et des cocci isolés. La culture est très maigre, de nombreux champs microscopiques ne présentent pas de germes.

Après 48 heures, on ne voit que de rares cocci isolés, ayant pour la plupart perdu le Gram.

Bactéridie charbonneuse « or » :

Après 24 heures : bâtonnet polymorphe sporulé, quelques diplobacilles, la culture est clairsemée, les bacilles sont surtout isolés.

Après 48 heures, on devine que les corps microbiens sont en train de se désagréger; où hier on trouvait des bacilles on ne voit aujourd'hui que des chapelets de petits éléments de la taille d'un staphylocoque environ.

Bacille de Strong :

Après 24 heures : Culture maigre, toutefois les bacilles présentent le même aspect morphologique que ceux poussés en tube témoin.

Après 48 heures : Le nombre des bacilles a considérablement diminué; ceux qui persistent sont fortement granuleux et le champ microscopique est parsemé de quantité de granulations bien colorées en rose.

Bacille de Shiga :

Après 24 heures : La culture est beaucoup plus clairsemée que celle du bacille de Strong; on voit un bacille court, mince et inégalement coloré.

Après 48 heures : Apparition d'un grand nombre de granulations et présence de bacilles plus ou moins désagrégés.

b) GERMES SE DÉVELOPPANT EN PNEUMOBACILLOSE.

Parmi ceux-ci :

1° Certains, tels que staphylocoque, pyocyanique, pneumobacille, bacille d'Aertricke, bacille de la psittacose, ne montrent aucune modification. Ils restent en tous points semblables aux formes obtenues avec les cultures sur gélose ordinaire.

2° Tous les autres nous offrent des cultures moins abondantes qu'en bouillon. Certains, tels que le colibacille, les typhiques et paratyphiques, présentent bien quelques granulations assez rares et une tendance à une diminution dans leurs dimensions habituelles; mais, d'une manière générale, les modifications morphologiques sont moins accusées qu'avec la pyocyanose.

CONCLUSION. — De l'examen de ces frottis, on déduit que les germes immergés dans la pneumobacilliose et qui sont sensibles à son action microbicide sont d'abord tués; ensuite ils se désagrègent pour aboutir à un semis de granulations. Quant aux germes qui se développent en pneumobacilliose, certains ne présentent aucune modification morphologique par rapport aux cultures homologues sur milieux usuels; certains sont gênés dans leur développement sans présenter toutefois d'importantes modifications.

C. — *Etude de la mobilité des germes ensemencés dans la pneumobacilliose.*

La grande majorité des germes sensibles à l'action de la pneumobacilliose sont des germes immobiles, exception faite pour les bacilles de Shiga et de Strong.

Une recherche de la mobilité, faite sur les germes non sensibles à l'action de ce lysat filtrat, nous a toujours donné une mobilité normale.

Quant à la recherche de la mobilité des bacilles de Shiga et de Strong, elle fut trouvée négative après 24 heures de contact; pourtant, à cette époque, les bacilles sont encore typiques. Ceci est donc une preuve du mode d'action de la pneumobacilliose qui immobilise d'abord les germes pour ensuite les tuer et finalement pour les lyser.

II

DE LA CULTURE DES GERMES SUR UNE CULTURE RACLEE DE PNEUMOBACILLES DE FRIEDLANDER SUR GELOSE

Le principe filtrant qui gêne le développement de certains germes et qui existe dans la pneumobacilliose se retrouve-t-il sur la gélose qui a servi à cultiver le pneumobacille ? Cette gélose, dépouillée de sa culture précédente, est-elle apte ou inapte à cultiver d'autres germes ?

Pour cela, nous pratiquons l'expérience suivante :

On ensemente sur des tubes de gélose inclinée ordinaire la souche de pneumobacille qui nous a servi à préparer le lysat filtrat.

Après 48 heures d'étuve, on verse dans chacun de ces tubes une quantité suffisante de sérum physiologique stérilisé pour recouvrir tout le milieu, et l'on reporte le tout à l'étuve.

Après 24 heures d'étuve, on vide ces tubes du sérum physiologique qu'ils contenaient. Ce sérum contient la culture microbienne sous forme d'émulsion. La surface de la gélose ne présente aucune trace de culture. Ces tubes sont portés pendant 10 minutes à l'ébullition. On les laisse refroidir en plan incliné et l'on obtient un milieu ne différant en rien extérieurement du milieu de gélose habituel.

Après vérification de leur stérilité, on ensemente ces tubes avec les souches suivantes :

Gram positif : Staphylocoque blanc, staphylocoque doré, bacillus subtilis, bacillus mesentericus, bactériodie charbonneuse « A » et « or », diphtériques Am P8, Marceau, Bastard, Mercédès, Ville.

Gram négatif : Typhique Pigeon, typhique Barche et typhique Yvonne, paratyphiques A et B, protéus X 19, pyocyanique, choléra, bacille de la psittacose (?), bacille de Morgan, bacille d'Aertricke, bacille de Gärtner, colibacilles 33 et Mattet, bacille de Shiga, de Strong, bacille pesteux, micrococcus melitensis, abortus.

Tous les ensemencements sont faits abondamment à l'anse de platine et les tubes sont immédiatement portés à l'étuve.

a) EXAMEN DES TUBES APRÈS 24 HEURES D'ÉTUVE.

Staphylocoque blanc. — Culture très maigre, ne rappelant en rien la culture de staphylocoque sur gélose ordinaire, constituée par une traînée à peine visible formée par de petites colonies punctiformes, isolées les unes des autres, à reflets bleutés par transparence.

Staphylocoque doré. — Culture encore plus maigre que la précédente, la traînée culturale n'est visible que dans certaines positions du tube. Pas de pigment sur les colonies, toutes de taille extrêmement réduite.

Typhique Pigeon et Barche. — Très petites colonies à peine visibles, toujours isolées les unes des autres, donnant, en définitive, une culture très maigre.

Paratyphique A. — Culture à peine visible.

Paratyphique B. — Macroscopiquement, on ne voit aucune trace de culture.

Protéus X 19. — Pas de culture visible.

Pyocyanique Pea. — Culture peu abondante formée par des colonies arrondies, isolées, séparées les unes des autres, assez saillantes sur leur milieu. Aucune trace de pigment ne se trouve sur la gélose.

Choléra. — Culture assez abondante, crémeuse, sous forme de traînée blanchâtre.

Bacille de la psittacose (?). — Culture maigre, à peine visible.

Bacille d'Aertricke. — Donne des colonies isolées, punctiformes, jamais confluentes.

Bacillus subtilis. — Légère traînée sur la surface du milieu.

Bacillus mesentericus. — Très légère culture.

Bacille de Morgan. — Culture minime formée par de toutes petites colonies punctiformes placées les unes à côté des autres.

Diphthérique Ville. — Culture très clairsemée; par endroits seulement, on aperçoit des traces de culture formée par de toutes petites colonies à peine visibles séparément.

Diphthérique Mercédès. — Légère traînée transparente sur le milieu de culture.

Diphthérique Am P8. — Aucune culture visible macroscopiquement.

Diphthérique Marceau. — Un très léger début de culture en certains points du tube.

Diphthérique Bastard. — On note un début de culture extrêmement maigre formée par des petites colonies punctiformes, toujours isolées les unes des autres.

Colibacille 33. — La culture obtenue ne rappelle en rien la culture de colibacille sur gélose ordinaire; comme pour les germes précédents, elle est constituée par un semis de petites colonies isolées.

Colibacille Mattet. — La culture obtenue est encore plus grêle que la précédente, la traînée de petites colonies est à peine visible.

Micrococcus melitensis. — Si une culture de ce germe sur gélose est souvent grêle après un jour d'étuve, celle que nous obtenons est à peine visible.

Micrococcus abortus. — Toute l'étendue du milieu est recouverte par de toutes petites colonies.

Bacille de Shiga. — On note une ébauche de culture sur certains points du tube.

Bacille de Strong. — Une très légère traînée sur la gélose à peine visible à l'œil nu.

Charbon « A ». — On constate seulement des colonies punctiformes, toutes isolées les unes des autres et donnant, en définitive, une très maigre culture sur le milieu.

Charbon « or ». — Par rapport à la culture précédente, celle de cette souche de charbon est assez abondante, de-ci de-là on note

bien quelques colonies isolées, mais on voit surtout de longues traînées blanchâtres, crémeuses.

Bacille pesteux. — Donne une culture abondante sous forme d'une longue traînée blanchâtre sur toute la hauteur du tube.

Bacille de Gärtner. — On ne trouve qu'un début de culture.

Typhique Yvonne. — Présente une culture très maigre avec des colonies isolées et une mince traînée translucide.

En résumé, après 24 heures d'étuve, on constate :

1° Que tous les tubes ont poussé, sauf le paratyphique B et le protéus X 19;

2° La plupart des cultures obtenues ne rappellent pas les cultures du même germe ensemencé sur gélose inclinée ordinaire.

Elles sont maigres, elles se ressemblent toutes entre elles, étant presque exclusivement constituées par un plus ou moins grand nombre de colonies punctiformes. On ne note pas de pigment pour les germes qui en produisent ordinairement, tels que le pyocyanique et le staphylocoque doré;

3° Par contre, chose curieuse, le bacille pesteux qui est détruit en 30 minutes dans de la pneumobacilliose et le charbon « or » détruit en 24 heures se développent très bien sur de la gélose pneumobacillisée.

b) EXAMEN DE CES MÊMES TUBES APRÈS TROIS JOURS D'ÉTUVE :

On constate :

1° Une culture abondante pour les germes :

Morgan;
Pesteux;
Charbon « or ».

2° Une culture plus grêle pour :

Typhiques;
Staphylocoque blanc et doré;
Mesentericus.

3° Une culture minime semblable à celle obtenue après un jour d'étuve pour :

Paratyphiques A et B;
Protéus X 19;
Pyocyanique;
Choléra;
Bacille d'Aertricke;
Bacillus subtilis;
Bacilles diphtériques;
Colibacilles;
Dysentériques;
Melitensis et Abortus.

En résumé, nous voyons que tous les germes, y compris les bacilles diphtériques, poussent sur la gélose pneumobacillisée. Mais pour beaucoup la culture est retardée, et pour certains elle reste maigre. Il est digne de remarque que les germes les plus sensibles à la pneumobacilliose ne sont pas forcément ceux qui sont le plus gênés dans leur développement sur la gélose pneumobacillisée.

c) EXAMEN MICROSCOPIQUE DES CULTURES APRÈS 48 HEURES D'ÉTUVE.

Il nous restait à voir si les germes qui donnaient ainsi des colonies atypiques sur la gélose pneumobacillisée étaient modifiés dans leur morphologie. Pour cela, nous avons fait des frottis qui, colorés par la méthode de Gram, nous ont donné les aspects ci-dessous :

Les bacilles diphtériques sont pour certains granuleux; ils se colorent mal, mais on ne voit pas de formes très modifiées.

Tous les autres germes ne sont nullement modifiés dans leur aspect habituel; ils conservent la même forme, la même propriété de coloration, et les germes mobiles ne sont pas diminués dans leur déplacement.

CONCLUSION. — Les expériences précédentes nous montrent que les germes détruits par immersion dans la pneumobacillose continuent à vivre sur de la gélose imprégnée par les sécrétions du pneumobacille. Donc le principe qui semble être antagoniste à certains germes ne doit pas être un produit de sécrétion du pneumobacille qui se trouve forcément sur la gélose raclée; il est vraisemblable qu'il s'agit là d'un principe inconnu dont l'existence paraît devoir être rattachée à la lyse elle-même du pneumobacille, principe beaucoup plus actif que la sécrétion du bacille lui-même, car tandis que ce dernier ne fait que gêner le développement de certains germes, le premier, le principe lytique, est suffisant pour les détruire.

III

ETUDE PARTICULIERE DES ACTIONS ANTAGONISTES EXERCEES PAR LE PNEUMOBACILLE DE FRIEDLANDER CONTRE LE BACILLE DE LOEFFLER

Au début de cette étude de l'action antimicrobienne de la pneumobacillose, nous avons vu que les bacilles diphtériques sont parmi les germes les plus rapidement tués lorsqu'ils sont immergés dans ce lysat filtrat. Nous avons vu que suivant les souches un contact de 45 minutes à 1 heure est suffisant pour amener leur destruction.

C'est pour cette raison, grande sensibilité du bacille diphtérique vis-à-vis de la pneumobacillose, que nous avons étudié de plus près cette question. D'ailleurs, ce même sujet a fourni le thème d'une belle étude à Papacosta, Gaté et Lesbre; ils ont signalé à différentes reprises cet antagonisme qu'ils ont d'ailleurs utilisé dans la stérilisation des porteurs de germes de bacilles diphtériques.

Nous avons essayé d'exalter l'antagonisme du pneumobacille pour le bacille diphtérique en entraînant le premier à vivre aux dépens du second.

A. — Expériences tendant à exalter les propriétés antagonistes de la pneumobacillose vis-à-vis du bacille diphtérique en préparant cette pneumobacillose à partir d'une souche longuement entraînée à vivre aux dépens des cultures de bacilles diphtériques.

Par analogie avec les résultats obtenus avec la pyocyanose, M. le Professeur agrégé Aubertin nous a conseillé de voir si, en cultivant du pneumobacille de Friedländer sur des cul-

tures déjà poussées de bacilles diphtériques, on n'augmenterait pas le pouvoir antagoniste du pneumobacille vis-à-vis du diphtérique.

a) TECHNIQUE.

Nous avons conduit notre expérience de la façon suivante : Nous avons commencé par ensemercer du bacille diphtérique Am P8 sur quatre tubes (tubes n° 1) :

Bouillon ordinaire;
Bouillon Martin;
Gélose inclinée;
Sérum coagulé.

Sur quatre autres tubes nous ensemençons de même notre souche de pneumobacille (tubes a). Deux jours après, nous repiquons le diphtérique des tubes 1 sur de nouveaux tubes 2. Les quatre tubes 1 sont ensuite ensemencés avec les cultures homologues de pneumobacilles des tubes a. A partir de ce moment, on dit que la culture des tubes 1 a été « pneumobacillisée ».

On répète cette opération deux jours après avec les tubes 2 que l'on repique sur des tubes 3 et sur ces tubes 2 on greffe le pneumobacille des tubes 1, qui vient ainsi de vivre deux jours avec du bacille diphtérique. Nous répétons la même opération, tous les deux jours, pendant un mois. Donc pendant tout ce mois le même pneumobacille de Friedländer a été transmis régulièrement tous les deux jours sur des cultures fraîches de bacilles diphtériques.

b) EXAMEN DES CULTURES DE BACILLES DIPHTÉRIQUES

« PNEUMOBACILLISÉES ».

Au point de vue macroscopique, on ne voit aucune modification appréciable sur cette culture.

Au point de vue microscopique, nous avons fait des frottis, colorés par la méthode de Gram. Ces frottis ont été faits

au début et à la fin de l'expérience. Ils nous ont donné les résultats suivants :

1° Un frottis fait 48 heures après le moment où la culture de diphtérique a été pneumobacillisée nous montre une proportion à peu près égale des deux germes, sans modifications morphologiques de part et d'autre;

2° Un frottis fait après un mois ne révèle que des pneumobacilles d'ailleurs presque tous granuleux et des séries de granulations violettes qui doivent être le vestige des bacilles diphtériques.

Ce seul résultat nous montre que le pneumobacille de Friedländer agit beaucoup moins rapidement que la pneumobacilliose. Après 48 heures de contact, on ne trouve aucune lyse et, de plus, l'expérience suivante va nous montrer qu'à cette date le bacille diphtérique est encore vivant.

En effet, lorsque nous avons voulu isoler le pneumobacille pour préparer une pneumobacilliose spéciale, nous nous sommes adressé à une culture qui venait d'être « pneumobacillisée » depuis 48 heures. Le procédé de l'isolement sur boîtes de Pétri nous a demandé de fortes dilutions préalables de la culture, et nous avons obtenu des colonies de bacilles diphtériques et des colonies de pneumobacilles.

D'où cette conclusion que le pneumobacille de Friedländer, comme d'ailleurs le pyocyanique, n'agit pas tant par lui-même que par ses produits de lyse.

c) ACTION SUR LE BACILLE DIPHTÉRIQUE DE LA PNEUMOBACILLOSE
OBTENUE A PARTIR DE PNEUMOBACILLES ENTRAÎNÉS A POUSSER
SUR DES CULTURES DE BACILLES DIPHTÉRIQUES.

Nous avons repris le pneumobacille isolé précédemment, et nous avons voulu voir si son séjour d'un mois sur du diphtérique n'avait pas augmenté son pouvoir antagoniste, vis-à-vis du bacille de Loëffler.

Pour cela, nous avons préparé, suivant la technique dé-

crite au chapitre II, une pneumobacilliose avec ce bacille. Ce lysat filtrat présente, au point de vue extérieur, la même couleur, la même odeur et la même consistance que la pneumobacilliose ordinaire. Le pH est le même.

Nous avons expérimenté cette pneumobacilliose spéciale sur 9 souches de bacilles diphtériques. Sur les 3 souches anciennes Am P8, 42-37 et 591 et sur 6 souches nouvelles provenant de l'identification des angines diphtériques faites à l'Institut Pasteur de Bordeaux et étiquetés, suivant le nom du malade, en diphtérique « Marceau », diphtérique « Mercédès », diphtérique « Ville », diphtérique « Bastard », diphtérique « Col » et diphtérique « Gonin », ces quatre derniers étant beaucoup plus pathogènes que les précédents.

Nous avons donc ensemencé dans cette pneumobacilliose spéciale nos 9 souches de diphtériques, et nous avons fait tous les quarts d'heure (connaissant la grande sensibilité du bacille diphtérique vis-à-vis de ce lysat filtrat) des repiquages à la pipette en bouillon ordinaire.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Après 15 minutes : Aucun germe n'est détruit.

Après 30 minutes : Résultat identique.

Après 45 minutes, sont détruits :

Diphtérique Am P8;

Diphtérique « Mercédès »;

Diphtérique « Marceau »;

Diphtérique 42-37;

Diphtérique 591.

Après 1 heure de contact, sont détruits :

Diphtérique « Bastard »;

Diphtérique « Ville »;

Diphtérique « Col »;

Diphtérique « Gonin ».

Nous pouvons donc dresser le tableau suivant :

Germes.	Contact en pneumobacillose.			
	15'	30'	35'	60'
Diphthérique Am P8	+	+	—	—
Diphthérique Mercédès.....	+	+	—	—
Diphthérique Bastard.....	+	+	+	=
Diphthérique Marceau.....	+	+	—	—
Diphthérique Ville.....	+	+	+	=
Diphthérique 42-37.....	+	+	+	—
Diphthérique 591.....	+	+	—	—
Diphthérique Col.....	+	+	+	—
Diphthérique Gonin.....	+	+	+	—

CONCLUSIONS.

1° Nous retrouvons ici le résultat obtenu avec la pneumobacillose ordinaire, à savoir que les différents bacilles diphthériques ne sont pas tous détruits dans le même temps.

On constate aussi que la pneumobacillose agit d'autant moins bien que le pouvoir pathogène du germe est plus élevé.

2° Cette pneumobacillose agit exactement comme la pneumobacillose ordinaire, elle nous permet de ne rien gagner sur les temps de destruction, elle aboutit à des résultats exactement identiques à ceux qu'on obtient avec la pneumobacillose ordinaire.

Nous pouvons donc conclure en disant que le pouvoir antagoniste de la pneumobacillose préparée à partir d'un germe ayant vécu un mois avec du bacille diphthérique n'est pas plus élevé que celui de la pneumobacillose ordinaire.

IV

APERÇU SUR LE MECANISME DES ACTIONS ANTIMICROBIENNES DE LA PNEUMOBACILLOSE

1° Pour expliquer le mode d'action de la pneumobacilliose, nous avons voulu rechercher s'il ne s'agissait pas d'un principe lytique ayant des analogies avec le principe bactériophagique. L'expérience suivante nous a fixé.

On prend un tube de bouillon ordinaire dans lequel on ajoute X gouttes de culture de bacille de Shiga en pneumobacilliose. Puis on ensemence ce tube avec le même bacille de Shiga. Après 24 heures d'étuve, on note une abondante culture dans le tube.

Donc, s'il s'était développé dans la pneumobacilliose ensemencée avec un germe donné un principe lytique analogue à celui du bactériophage, il est à présumer que ce principe transmis dans le bouillon frais aurait empêché le développement du germe spécifique. Nous pouvons donc dire que la lyse observée sous l'influence de la pneumobacilliose s'effectue par un mécanisme très différent de celui de la bactériophagie.

2° Dans le cas présent, et contrairement à ce que nous avons obtenu pour la pyocyanose et pour le bacille pyocyanique, c'est seulement la pneumobacilliose, produit d'auto-lyse des pneumobacilles par séjour à l'étuve pendant un mois, qui exerce une action antimicrobienne sur certains germes. Par exemple, lorsque l'on dépose les germes sur une gélose ensemencée 48 heures auparavant avec du bacille de Friedländer, puis raclée, les germes sont un peu gênés dans leur développement, mais tous restent vivants.

L'exemple du bacille diphtérique nous a montré que ce

germe — très sensible à la pneumobacilliose qui le détruit de 45 minutes à 1 heure — peut pousser maigrement sur gélose pneumobacillisée. Vivant 48 heures en contact avec le pneumobacille, il n'est pas détruit.

Tous ces faits nous montrent que l'action antagoniste exercée par le pneumobacille vivant sur certains germes est faible, que celle de ses produits de sécrétion récemment émis est nulle, mais que ce sont surtout les produits d'autolyse qui exercent une action microbicide et lytique sur certains microbes.

3° Comme pour la pyocyanose, cette action microbicide et lytique assez rapide ne peut être obtenue qu'à la condition de faire agir une grande quantité de pneumobacilliose. En effet, si, dans un tube de bouillon ordinaire, on ajoute X gouttes ou XX gouttes de pneumobacilliose et que l'on ensemence ensuite un germe sensible, son développement est normal.

4° Le fait que le pneumobacille de Friedländer peut se développer dans son propre lysat filtrat montre que l'épuisement des propriétés nutritives du milieu ne doit pas jouer. De plus, si son action microbicide était conditionnée par l'épuisement du milieu, on comprendrait mal la rapidité avec laquelle certains germes — tels que les bacilles diphtériques — sont détruits.

5° Nous pouvons donc conclure que l'action microbicide et lytique des lysats filtrats de culture de pneumobacilles de Friedländer est liée à des produits de lyse de ce microbe dont la nature nous est inconnue. Ce que nous pouvons dire, c'est qu'il ne s'agit pas là d'un antiviral de Besredka pour les deux raisons suivantes :

1° puisque le pneumobacille peut s'y développer;

2° puisque l'action antagoniste n'est pas spécifique.

CHAPITRE V

De l'action de la pyocyanose sur certaines infections expérimentales.

I. — De la toxicité de la pyocyanose.

Avant d'étudier l'action thérapeutique possible de ce produit, il est bon de savoir s'il ne présente par lui-même aucun pouvoir toxique. Pour cela, nous avons expérimenté sur trois des animaux courants de laboratoire : le cobaye, le lapin et la souris blanche. L'injection sous-cutanée de pyocyanose pratiquée sur le cobaye ne s'accompagne d'aucun trouble, ni élévation de température, ni état de schock, ni aucun malaise passager. De même, l'injection intrapéritonéale est absolument inoffensive. Sur le lapin, nous avons injecté dans la veine marginale de l'oreille 1 cc. de pyocyanose. On ne constate aucun choc au moment de l'injection, l'animal ne semble pas s'en apercevoir. Par la suite, nous avons pu lui injecter par voie intraveineuse 10 cc. en une seule fois sans le moindre incident. Par la voie sous-cutanée, le lapin supporte très bien de fortes doses de pyocyanose; nous avons pu lui injecter 50 cc. par jour, pendant 3 jours, sans aucun phénomène. De même, la souris blanche supporte très bien l'injection de pyocyanose.

Vu ces résultats, on peut dire que la pyocyanose est un produit non toxique.

II. — Action de la pyocyanose sur le charbon expérimental.

Depuis longtemps on connaît l'antagonisme qui existe entre le bacille pyocyannique et la bactériodie charbonneuse. Emmerich et Loew ont fait jouer ce rôle à la pyocyanase, qui serait une enzyme protéolytique. Fortineau a montré qu'en injectant sa « pyocyanéine », qui est une culture minérale de bacilles pyocyanniques, on pouvait guérir le charbon déclaré. Nous

avons cherché à voir quels étaient les rapports entre la pyocyanose, l'infection charbonneuse et le charbon déclaré.

Pour cela nous avons expérimenté sur le cobaye, animal très sensible au charbon, en nous servant d'une souche étiquetée « Pont », tuant le cobaye en 48 heures environ à la dose de 1 cc. d'une émulsion dans 40 cc. de sérum d'une culture de 24 heures sur gélose.

Nous nous sommes servi de 8 cobayes, d'un poids moyen de 450 à 500 grammes.

Les deux premiers ont reçu 1 cc. d'un mélange à parties égales de pyocyanose et d'émulsion de charbon. Mort des deux cobayes en trois jours. A l'autopsie, on retrouve le bacille par ponction du cœur et sur le frottis des organes.

Les cobayes 3 et 4 sont inoculés avec 1 cc. d'un mélange à parties égales de pyocyanose et de cette émulsion, mélange pratiqué la veille et conservé à l'étuve à 37 degrés. Les deux animaux survivent. A l'autopsie, faite trois mois après, on ne trouve rien; l'hémoculture est négative.

Les cobayes 5 et 6 sont injectés avec 1 cc. de l'émulsion de charbon. 24 heures après, ils reçoivent 1 cc. de pyocyanose sous la peau du flanc. L'un de ces animaux meurt 24 heures après la deuxième injection, l'autre meurt 36 heures après la même injection.

Les cobayes 7 et 8 reçoivent 1 cc. de la même émulsion du charbon, le matin à 8 heures. Le soir, à 19 heures, on leur injecte sous la peau 1 cc. de pyocyanose. Aucun des deux animaux ne succombe. Nous les sacrifions trois mois après ces injections; leur poids n'a pas diminué et on ne retrouve plus la bactériidie charbonneuse.

De tout ceci, on peut donc conclure :

1° L'injection simultanée de charbon et de pyocyanose prolonge peut-être la vie de l'animal, mais en tout cas elle est impuissante à le protéger contre l'infection charbonneuse;

2° Si les bactériidies sont restées auparavant en contact

24 heures avec la pyocyanose, l'animal survit. Ce fait ne nous étonne pas, étant donné que nous avons montré plus haut que 24 heures suffisaient à tuer la bactérie de Davaine ensemencée dans la pyocyanose.

3° Pour être efficace dans la guérison du charbon, l'injection de pyocyanose doit se faire peu de temps après l'injection, moins de 12 heures après celle-ci.

Ces résultats concordent avec ceux qu'a obtenus Fortineau avec la pyocyanéine.

III. — Action de la pyocyanose sur la rage expérimentale.

Nous verrons au chapitre suivant les heureux effets obtenus par des instillations intranasales de pyocyanose dans le coryza, qui est dû certainement à un virus filtrant. Ce fait nous a conduit à étudier l'action de ce produit sur un autre virus filtrant, le virus rabique. Après nous avoir soumis cette idée, M. le Professeur agrégé Aubertin a bien voulu nous procurer du bulbe de lapin enragé et faire avec nous les inoculations intracérébrales chez le lapin.

Le 1^{er} juin 1931, nous faisons deux émulsions, chacune avec la moitié de ce bulbe, la première dans du sérum physiologique (émulsion A), la deuxième dans de la pyocyanose (émulsion B). Une demi-heure après la préparation de ces émulsions, on inocule par voie intracérébrale :

a) à deux lapins n^{os} 34-37 et 62-37 l'émulsion A;

b) à un lapin n^o 91-37 l'émulsion B.

On inocule également cette émulsion au bout d'une heure au lapin 11-23 et au bout de 1 h. 30' au lapin 36-37.

Les lapins sont examinés tous les jours. Ils ne présentent aucun phénomène pathologique les huit premiers jours. Le 9 juin, les deux témoins sont paralysés et couchés sur le flanc, de même que l'animal n^o 36-37. Les deux autres lapins ne présentent rien, si ce n'est que le n^o 11-23 a accouché dans la nuit du 8 au 9 de trois petits lapins.

Nous laissons les deux lapins témoins sans aucun traitement et nous faisons aux trois autres lapins une injection sous-cutanée de 10 cc. de pyocyanose. Le soir, l'un d'eux, le lapin 11-23, est à son tour paralysé; par contre, le 91-37 court dans sa cage et essaie d'échapper lorsqu'on veut le saisir. On refait à ces 3 lapins une nouvelle injection sous-cutanée de 10 cc. de pyocyanose.

Le lendemain, un des témoins est trouvé mort; l'animal n° 91-37 n'est toujours pas paralysé. On fait 3 injections sous-cutanées de pyocyanose à 7 h. 30, à 11 heures et à 18 heures. Le 11 juin, on note la mort du lapin n° 11-23. On continue à injecter aux n°s 36-37 et 91-37, 20 cc. de pyocyanose sous la peau de l'abdomen. Le 12 juin, au matin, on trouve morts les deux lapins 91-37 et 36-37.

De cet essai, on peut conclure que :

1° Le virus rabique mis au contact de pyocyanose garde toute sa virulence;

2° L'injection sous-cutanée de pyocyanose, même à forte dose, est impuissante à enrayer l'évolution de la rage chez le lapin.

IV. — Action de la pyocyanose sur l'infection streptococcique expérimentale.

Reprenant le même thème que celui des deux essais précédents, nous avons voulu voir comment se comportait sur l'animal le streptocoque et la pyocyanose. Pour cela, nous nous sommes servi d'une souche de streptocoque hémolytique récemment isolée d'une pyodermite et douée de propriétés pathogènes pour le cobaye. Cet animal succombait en trois jours à la suite de l'injection sous-cutanée de 1 cc. de l'émulsion dans 10 cc. de sérum physiologique d'une culture de 24 heures sur gélose ascite de la souche de streptocoque précédente.

Nous nous sommes servi de 4 cobayes.

- 1^{er} animal (animal témoin) : Reçoit par la voie sous-cutanée 1 cc. de l'émulsion précédente. On constate la mort en trois jours environ.
- 2^e animal : Reçoit par la voie sous-cutanée 2 cc. d'un mélange extemporané et à parties égales de pyocyanose et de l'émulsion précédente de streptocoques. L'animal ne présente aucun phénomène les trois premiers jours: le quatrième jour, il reste dans un coin de sa cage, refuse toute nourriture et meurt le cinquième jour.
- 3^e animal : Est injecté avec 2 cc. d'un mélange à parties égales de streptocoque et de pyocyanose, préparé depuis 24 heures et laissé à l'étuve. On constate la survie de l'animal, qui est sacrifié après trois mois et qui, à ce moment-là, présente une hémoculture négative pour le streptocoque.
- 4^e animal : Reçoit 1 cc. de l'émulsion précédente de streptocoque, et, 24 heures après, 1 cc. de pyocyanose. Mort de l'animal en trois jours.

Nous pouvons donc tirer les conclusions suivantes :

1° L'injection simultanée de pyocyanose et de streptocoques ne fait que retarder l'issue fatale. Rappelons que ce fait avait été déjà démontré pour la pyocyanase par Isabolinski en 1913.

2° Un contact de 24 heures entre pyocyanose et streptocoque suffit pour détruire ce dernier;

3° L'injection de 1 cc. de pyocyanose à un animal ayant reçu 24 heures avant une dose mortelle de culture de streptocoque n'a pas empêché l'évolution de l'infection.

CHAPITRE VI

**Quelques essais d'utilisation pratique de la
pyocyanoase en thérapeutique humaine.**

L'étude de la vitalité des différents germes ensemencés en pyocyanose nous a montré que certains d'entre eux sont très sensibles *in vitro* à l'action de ce lysat filtrat.

D'autre part, l'expérimentation de la pyocyanose chez l'animal nous a montré que ce produit est dénué de tout pouvoir toxique.

Il était logique, dans ces conditions, d'essayer de l'appliquer chez l'homme à la thérapeutique des infections pour les germes desquelles la pyocyanose paraît avoir *in vitro* un pouvoir microbicide.

C'est ainsi que M. le Professeur agrégé Aubertin nous a demandé de rechercher quel pouvait être l'effet thérapeutique produit par la pyocyanose dans le traitement de certaines maladies. Nous avons été amené à utiliser ce produit dans certaines affections gynécologiques, à titre de pansement dans des suppurations locales et dans les infections à gonocoques. Enfin, comme nous le verrons plus loin, nous l'avons essayé dans le coryza et dans les inflammations naso-pharyngées.

I. — Pyocyanose et affections gynécologiques.

Nous nous sommes adressé aux métrites chroniques avec abondant écoulement purulent par le col. Nous avons employé la technique suivante : la femme est mise en position gynécologique, on place les valves et, après nettoyage du vagin et du col à l'eau bouillie, on introduit, au moyen de la pince à col, une gaze ordinaire imbibée avec le contenu d'une ampoule de 10 cc. de pyocyanose. Cette gaze est maintenue au contact du col par d'autres tampons introduits derrière elle par le vagin. Selon l'état plus ou moins fétide des sécrétions, le pansement était laissé en place 24 ou 48 heures. Au bout

de ce temps, on l'enlevait, et après nouveau nettoyage du col à l'eau bouillie on recommençait la même opération. Au début du traitement, pendant celui-ci et à la fin, nous faisions des prélèvements au niveau du col, et les frottis obtenus étaient examinés par la méthode de Gram; de telle sorte, nous pouvions suivre comment se comportait la flore microbienne sous l'influence de la pyocyanose.

OBSERVATION I.

L... (Marcelle), 28 ans.

Entre au service de la salubrité de Bordeaux pour bartholinite aiguë. A l'examen, après incision de la bartholinite, on note une métrite avec écoulement purulent au méat, et au spéculum on note un gros écoulement verdâtre, fétide, au niveau du col, qui est légèrement entr'ouvert.

Le 26 février, on fait un prélèvement de pus au niveau du col. Le frottis, examiné par la méthode de Gram, nous donne :

a) *Cytologie* :

Nombreux polynucléaires;
Quelques cellules épithéliales.

b) *Bactériologie* : Flore microbienne abondante constituée par :

- 1° Nombreux bâtonnets renflés et courts, Gram +, souvent associés en diplobacilles;
- 2° Gros cocci, du type Sarcine;
- 3° Gros diplocoques, Gram +;
- 4° Cocci isolés du type staphylocoque;
- 5° Bâtonnet du type colibacille;
- 6° Présence de nombreux gonocoques, tous extra-cellulaires.

On fait un tamponnement à la pyocyanose qui reste en place 20 heures; la malade, difficile à soigner, ancienne internée de Château-Picon, l'enlève.

Le 28 février, nouveau pansement intravaginal, et on ordonne à la malade de rester au lit.

Le 1^{er} et le 3 mars, on ne constate aucune modification, et on refait le pansement.

Le 5 mars, on constate une amélioration, l'écoulement est devenu muco-purulent, notablement diminué en abondance, pourtant la fétidité persiste. Le col est saignant, légèrement entr'ouvert. Aussi plaçons-nous dans son intérieur une mèche imbibée de pyocyane et faisons-nous comme auparavant un pansement vaginal avec ce produit.

De plus, un frottis, fait ce même jour, nous montre : une diminution très marquée dans le nombre de germes. Les diplocoques et les cocci Gram + persistent, on note de rares bâtonnets Gram + ; par contre, on ne trouve plus aucun gonocoque, même après un examen soigneux.

Le 7 mars, la fétidité du pus a disparu, l'écoulement est de peu d'importance, on refait le même pansement.

Le 9 mars, la malade est indisposée, ses règles durent six jours ; le 15 mars et les jours suivants, on ne trouve aucun écoulement, le col est rouge, entr'ouvert. On fait un frottis qui révèle une flore microbienne banale constituée par des cocci Gram + ; des petits bâtonnets Gram + du type diphtérique, quelques bâtonnets Gram —, absence de gonocoque.

La malade est exécutée le 17 mars 1932.

OBSERVATION II.

C... (Germaine), 43 ans.

Entre au service de la Salubrité de Bordeaux le 11 février 1932 pour urétrite chronique et métrite cervicale d'origine gonococcique. A été déjà hospitalisée dans ce service à deux reprises en 1931 pour urétrite gonococcique.

Dès son entrée, à la date du 22 février 1932, la malade est traitée par des injections au permanganate de potasse et par l'application d'ovules.

Nous voyons la malade le 25 février, et M. le Professeur agrégé Joulia veut bien nous autoriser à essayer notre traitement, à l'ex-

clusion de tout autre. De ce fait, le 26, la malade prend uniquement des injections à l'eau bouillie.

Le 27 février, à l'examen : col entr'ouvert, abondant écoulement muco-purulent verdâtre, épais et gluant dans les culs-de-sac. On fait un frottis qui nous donne :

a) *Cytologie* :

Nombreux leucocytes;

Gros placards épithéliaux en grand nombre.

b) *Bactériologie* : Flore extrêmement abondante rappelant par endroits une culture sur gélose et constituée par :

1° Un grand nombre de cocci Gram +, isolés, en diplocoques ou en grappes du type staphylocoque;

2° De nombreux diplocoques du type entérocoque;

3° De courtes chaînettes de cocci Gram +;

4° Des bâtonnets longs et grêles Gram —;

5° De petits bâtonnets Gram —;

6° Gonocoques en grand nombre, surtout extracellulaires, de très rares intracellulaires.

On fait un tamponnement vaginal que l'on laisse en place 48 heures.

Le 29 février et le 1^{er} mars, pansement à la pyocyanose.

Le 3 mars, le pus est épais; de plus, on note une petite ulcération saignante au pôle supérieur. On place une mèche imbibée de pyocyanose dans le canal cervical.

Le 5 et le 7 mars, état stationnaire, même traitement.

Le 9 mars, le col est très diminué de volume, l'écoulement est minime, translucide, comparable à de l'albumine d'œuf. On fait un frottis.

a) *Cytologie* :

Nombreux leucocytes;

Placards épithéliaux.

b) *Bactériologie* :

Nombreux cocci du type staphylocoque;

Bâtonnets longs et grêles Gram —;

Quelques petits bâtonnets Gram —;

Pas de gonocoques.

Le 11 mars, écoulement très minime, pas de fétidité, l'ulcération du col est cicatrisée; on continue le traitement.

Le 13 et le 15 mars, même état.

Le 17 mars, l'écoulement a cessé, le col est revenu à un volume normal. Sa couleur et sa consistance sont normales. Un frottis fait à cette date ne révèle qu'une flore banale sans gonocoques.

La malade sort de l'hôpital le 18 mars.

OBSERVATION III.

L... (Marie), épouse E..., 36 ans, salle 8, lit 6.

Entre à l'Hôpital Saint-André (service de M. le Professeur Bégouin) le 7 novembre, pour fausse couche survenue le 3 novembre avec expulsion d'un embryon décomposé; odeur fétide avec hémorragie abondante et caillots. Les jours suivants, état général grave avec frissons, fièvre 38°5, 39 degrés. Grosse collection purulente dans le cul-de-sac de Douglas qui tombe quand on pratique le toucher vaginal et nécessite le 11 novembre une colpotomie qui évacue 400 cc. de pus.

Le 15 janvier 1932, on pratique une hystérectomie vaginale de drainage extrêmement difficile, on ne peut réaliser en avant la bascule du fond de l'utérus, l'ablation de l'utérus se fait avec deux pinces et par fragments. Ponction au trocart suivie d'incision à droite et écoulement abondant de pus.

Les suites opératoires sont les suivantes : dès le soir, chute de la température; le deuxième jour, rétention, température. La malade fait de temps à autre des poussées de température due à la rétention du pus dans la poche colpotomisée, la fièvre tombe lorsqu'on rétablit le drainage. L'exploration montre une poche dure aux parois incapables de s'accoler.

Très mauvais état général.

Le 23 février, on retire le drain, tout le fond du vagin est rempli de pus épais, verdâtre, extrêmement fétide, d'odeur repoussante. Un frottis, fait avec ce pus, nous montre :

Une flore microbienne abondante constituée par :

- 1° Cocci isolés Gram + et en grappes du type staphylocoque;
- 2° Cocci en chaînette du type streptocoque;
- 3° Gros cocci en diplocoque Gram +;
- 4° De nombreux amas de bâtonnets longs et grêles Gram +;
- 5° Bâtonnets courts et grêles Gram +;
- 6° Grande abondance de bâtonnets Gram —.

On fait un tamponnement vaginal avec une compresse imbibée de 5 cc. de pyocyanose.

Le 26 février, la malade n'a ressenti aucune douleur à la suite de l'application de ce produit. Le pansement, enlevé, dégage une odeur très fétide et l'écoulement fut abondant durant la nuit.

Le 27 février, la malade fait une poussée de température à 38°5, l'état général demeure le même. Nouveau pansement à la pyocyanose.

Le 29 février, on constate :

1° Une chute de température, celle-ci ne dépasse pas 36°5 le soir.

2° Une amélioration de l'état général, la malade a la figure colorée, nous la trouvons assise sur son lit. Elle nous déclare que, depuis le début de notre traitement, ses douleurs ont disparu, et que, dans la nuit du 28 au 29, l'écoulement fut moindre et moins épais, « comme s'il était mélangé à de l'eau », nous dit la malade.

A l'examen, on note une odeur bien moins fétide du pansement, pourtant laissé en place 48 heures. Contrairement aux examens précédents, le fond du vagin n'est plus transformé en un lac de pus.

Les 1^{er}, 2 et 3 mars, état stationnaire.

Le 4 mars, on fait un frottis qui nous montre une flore toujours

abondante, mais beaucoup moins variée que lors du premier examen. Les bâtonnets Gram + ont disparu, les cocci restent en grand nombre, mais on n'observe plus ni chaînettes, ni grappes, à peine quelques rares diplocoques; les bâtonnets Gram — persistent.

Le 5 mars, l'état général est bon, plus de température, la malade se sent mieux, l'écoulement est minime, arrivant à peine à salir une garniture. La fétidité du pus a à peu près complètement disparu. L'écoulement est peu abondant, plutôt muco-purulent; le fond du vagin ne baigne plus dans le pus. L'orifice persistant saigne légèrement sur ses bords et semble ramolli sur son pourtour.

Les 6, 7, 8 mars, état stationnaire; pansement quotidien.

Le 9 mars, l'état général est encore amélioré, plus de fétidité, l'écoulement est très minime, les bords de l'orifice sont charnus, rouges et saignants.

Le 12 mars, l'écoulement minime n'est plus purulent. Il est teinté en rouge. Le fond du vagin est net, un tampon introduit ramène du sang. Un frottis nous montre : une flore microbienne très rare, constituée par des cocci Gram + et des bâtonnets Gram —. On note de nombreuses hématies.

Le Docteur Dubourg, qui n'a plus revu la malade depuis le 25 février, conclut à une amélioration considérable et propose une intervention par voie abdominale.

L'état général bon, l'apyrexie, le tarissement de cet abondant écoulement fétide et purulent, sont en faveur d'une nouvelle intervention par voie haute pour enlever cette coque dure. Elle est pratiquée quelques jours après et avec des suites normales, la malade quitte l'hôpital tout à fait guérie.

OBSERVATION IV.

M... (Germaine), 20 ans, salle 8, couchette 2.

Entre à l'Hôpital Saint-André (service de M. le Professeur Bégouin) parce qu'elle a des pertes et des mictions douloureuses.

A l'examen : col rouge, turgescant; avec mèche purulente au

niveau de l'orifice. La pression fait sourdre du pus au niveau du méat. B.-W. négatif.

Le 1^{er} mars, on fait un frottis qui nous montre : une flore microbienne abondante et variée, constituée par des bâtonnets Gram + et Gram —, de nombreux cocci isolés ou en diplocoques, de gros coccobacilles Gram + et de nombreux gonocoques.

Nous lui faisons un pansement vaginal avec 10 cc. de pyocyanose, ce pansement sera renouvelé toutes les 48 heures.

Le 3 mars, odeur légère du pansement et état stationnaire. Ni douleur, ni cuisson, ni gêne d'aucune sorte, ne sont ressentis par la malade.

Les 5, 7 et 9 mars, on refait le pansement.

Le 11 mars, on fait un nouveau frottis qui nous montre une flore microbienne moins riche uniquement constituée par des bâtonnets et cocci Gram +, sans gonocoques.

L'écoulement est glaireux, blanchâtre, sans odeur.

Le 14 mars, c'est-à-dire trois jours après, le pansement est changé, le col est rouge, l'orifice est saignant, mais les pertes sont rares.

Le 18 mars, nous quittons Bordeaux, laissant une malade améliorée, et à notre retour, le 4 avril, nous apprenons que la malade a quitté Saint-André, guérie, le 22 mars 1932.

OBSERVATION V.

T... (Francia), 48 ans, soignée déjà pour gonococcie aiguë, revient le 2 août, Hôpital civil de Toulon, à la consultation parce qu'elle présente des pertes verdâtres et des douleurs à la miction. On porte le diagnostic d'urétrite purulente, de métrite cervicale et de légère ulcération du col.

Dès son entrée, un frottis nous montre de nombreux gonocoques associés à des germes banaux, surtout à des cocci du type staphylocoque, entérocoque et à des bâtonnets Gram — et Gram +.

On fait un tamponnement à la pyocyanose, qui sera laissé en place 48 heures.

Le 4 août, on change le pansement, et l'on pratique la même opération tous les deux jours jusqu'au 10 août.

Le 10 août, les pertes ont diminué; elles sont bien moins épaisses, se présentant sous forme de glaires au niveau de l'orifice cervical. L'ulcération est saignante, le col diminué de volume.

Un frottis nous montre de nombreux cocci et bâtonnets Gram + et l'absence de gonocoques.

Le 12 août et jours suivants, on change de nouveau le pansement. La malade n'accuse jamais aucune gêne, ni douleur. A la date du 18 août, l'ulcération est cicatrisée; au niveau du col, on ne trouve pas de sécrétion ni glaireuse ni d'autre sorte. On laisse la malade sans traitement pendant quatre jours.

Le 22 août, à l'examen au spéculum, on ne trouve rien. Un frottis fait la veille ne nous montre que des germes banaux, cocci, diplocoques et bâtonnet Gram + et bacilles Gram —.

La malade quitte l'hôpital le 22 août.

OBSERVATION VI.

M... (Henriette), 45 ans, cuisinière.

Mariée depuis 20 ans, a eu deux enfants vivants et bien portants.

Présente depuis un an d'abondantes pertes verdâtres, quelquefois blanchâtres, d'odeur fétide, empesant le linge. Nie tout antécédent vénérien; son B.-W. est négatif; son mari est en excellente santé.

A l'examen, pertes vaginales, mais la muqueuse ne paraît pas enflammée, ni du côté du col, ni du côté du corps de l'utérus. La malade s'est soignée — sur l'avis de son médecin — par des injections au permanganate et par des ovules (la malade déclare avoir essayé un grand nombre de spécialités).

Nous voyons la malade le 17 août et nous faisons un frottis qui nous montre de nombreuses cellules et des germes variés, cocci, diplocoques, bâtonnet Gram +, petits et gros bâtonnets Gram — et l'absence de gonocoques.

Nous lui faisons un pansement à la pyocyanose laissé en place

24 heures. Les jours suivants, l'écoulement semble s'atténuer, puis reprend son intensité; nous suivons la malade ainsi pendant un mois sans aucune amélioration nette. Le 15 septembre, un frottis nous montre les mêmes germes.

Nous abandonnons la malade à cette date.

OBSERVATION VII.

C... (Angèle), 32 ans.

A eu en 1925 une fausse couche accidentelle, nous dit-elle. Souffre depuis quelques jours de troubles de la miction, et ses pertes blanches sont devenues verdâtres et sentent mauvais.

A l'examen : le col est gros, congestionné, l'orifice entr'ouvert laisse sourdre du pus, rien dans les culs-de-sac.

Le 6 avril 1932, on fait un frottis qui nous révèle une flore microbienne abondante constituée par :

De nombreux polynucléaires;

Des bâtonnets longs et grêles Gram —;

Des cocci isolés du type staphylocoque;

Des diplocoques et de courtes chaînettes du type entéro-pneumocoque;

De nombreux gonocoques.

Pansement à la pyocyanose, qui est laissé en place 24 heures.

On le renouvelle tous les jours jusqu'au 12 avril.

Le 12 avril, à l'examen, on constate que le col est moins rouge et moins gros; l'écoulement, verdâtre au début, est devenu mucopurulent. On fait un frottis qui nous démontre une modification quantitative, en ce sens que la flore est beaucoup moins riche.

A partir de cette date, le pansement est laissé en place 48 heures.

Le 14 avril, on ne note aucun changement. On refait le tamponnement jusqu'au 20 avril.

Le 20 avril, quoique l'état local soit stationnaire, nous faisons un frottis, sur lequel nous constatons l'absence de gonocoques; les autres germes persistent, mais on ne voit plus de chaînettes,

et les bâtonnets Gram — sont très rares; par contre, on note des bâtonnets courts et renflés au centre Gram +.

Le 25 avril, on laisse la malade sans traitement; elle est réglée à cette date, et, les règles passées, nous ne revoyons plus la malade, qui a quitté Bordeaux.

CONCLUSIONS.

De ces sept observations, plusieurs points découlent :

1° Nous constatons tout d'abord la sensibilité du gonocoque à la pyocyanose, il a fallu à ce produit un minimum de neuf jours pour détruire ce diplocoque dans l'observation I et un maximum de 20 jours dans l'observation V. Ce résultat, obtenu *in vivo*, concorde avec celui obtenu *in vitro* par le Docteur Moureau, qui n'a jamais pu faire pousser du gonocoque sur de la gélose ascite en plan incliné, sur laquelle on avait laissé tomber quelques gouttes de pyocyanose. Ce lysat filtrat possède donc une action empêchante et destructive sur le diplocoque de Neisser qui nous a paru susceptible d'être signalée et retenue.

2° L'observation III nous montre une belle guérison obtenue avec ce produit. En effet, au début du traitement, la malade offrait un très mauvais état général, son diagnostic était sombre, son pronostic réservé. En dix-sept jours, son état s'est grandement amélioré; son état général redevient bon, sa température tombe, son état local se modifie considérablement, si bien que la malade peut supporter une nouvelle intervention et sort guérie de l'hôpital. Nous avons dans cette observation un bel exemple sur l'effet thérapeutique de la pyocyanose.

II. — Pyocyanose et plaies suppurées.

Pour le traitement des plaies suppurées par la pyocyanose, nous avons employé la méthode précédente, c'est-à-dire le pansement à la gaze imbibée par ce produit. Sur ce chapitre

nous n'avons pu réunir que deux observations, faites toutes deux à la campagne, durant nos vacances, et pour lesquelles, n'ayant avec nous aucune lame, nous n'avons pu faire aucun frottis. Cette étude est par conséquent bien incomplète, et nous ne mentionnons ici les faits suivants qu'à titre d'indications pour des recherches ultérieures.

OBSERVATION VIII.

V... (Joseph), 65 ans, cultivateur.

A la suite d'une piqûre avec un morceau de bois, se développe sur la face dorsale de la main une énorme plaie suppurée, avec nombreux orifices d'où s'écoule du pus, faisant ressembler la main à une écumoire. Cet état dure depuis quinze mois; en vain le malade consulte son pharmacien (!), qui lui donne une pommade, et se soigne avec les remèdes du pays.

Nous voyons cette plaie le 10 août, et, après nettoyage à l'eau oxygénée et à l'alcool, nous lui faisons un pansement avec 10 cc. de pyocyanose. A cette époque, le pus était jaune, bien lié, et l'odeur légère. Le pansement est renouvelé tous les jours. Peu à peu, on constate une diminution dans l'écoulement, les clapiers deviennent peu à peu rosés, le pus est moins épais. Le 20 août, un grand changement s'est opéré depuis dix jours : la face dorsale de la main est rose, les bords des nombreuses ulcérations sont rouges, le pus a disparu. Nous continuons le pansement encore dix jours, et nous constatons que la cicatrisation ne s'opère pas. Au contraire, les ulcérations ont l'air de creuser. Aussi, arrêtons-nous ce traitement et soignons cette plaie par la méthode habituelle (pansement au Dakin). La cicatrisation totale est obtenue en dix jours.

OBSERVATION IX.

L... (Renée), 27 ans, employée de ferme.

Se présente au Service des pansements externes de l'Hôpital civil de Toulon, où nous nous trouvons, pour morsure de la jambe gau-

che. Cette femme a été mordue par le chien de la ferme, à qui elle voulait enlever un os. Elle affirme que son chien n'est pas enragé, qu'il est seulement méchant et qu'il l'a mordue plusieurs fois déjà. Elle présente, au niveau de la face externe de la jambe, une plaie de 4 centimètres environ, avec bords déchiquetés. Après épiluchage de la plaie, nous fermons avec quelques crins en laissant un petit drain. Quatre jours après, la plaie suppure, et lorsque la malade revient, nous enlevons les crins et nous faisons des pansements humides au Dakin. La malade ne revient plus se faire panser à l'Hôpital, et nous la retrouvons quinze jours après au village de R... La plaie suppure toujours, les bords sont grisâtres, le fond sanieux, une odeur nauséabonde s'en dégage; nous coupons au ciseau les lèvres et faisons un pansement à la pyocyanose. En quatorze jours, la plaie devient rosée, le fond, bourgeonnant, est rouge vif, les bords sont vivants, l'odeur est nulle, aucun écoulement purulent. Nous arrêtons ce produit et nous pansons la plaie au Dakin et à la pommade de Reclus. La guérison est presque complète lorsque nous quittons R..., vingt jours après notre arrivée.

Il est impossible de tirer des conclusions de deux seules observations, d'ailleurs privées de contrôle bactériologique. Il semble cependant que la pyocyanose puisse exercer dans certains cas un pouvoir désinfectant sur les plaies suppurées. Si elle peut assainir une plaie, elle ne semble pas activer la cicatrisation. Peut-être faudrait-il l'employer concurremment avec les méthodes usuelles de traitement des plaies infectées.

III. — Pyocyanose et blennorrhagie.

Ici encore nous ne pouvons apporter que deux observations, dues à l'obligeance de deux de nos camarades, qui ont bien voulu se prêter à nos recherches.

Le traitement consiste en injection urétrale de 5 cc. de pyocyanose au moyen de la seringue canule en verre. Sitôt l'injection faite, on place au niveau du gland une pince à méat, de façon à empêcher au liquide de ressortir. Nous fai-

sions faire ainsi deux instillations par jour, que les malades gardaient autant qu'ils pouvaient.

Malheureusement, l'introduction de pyocyanose dans le canal de l'urètre provoque une vive cuisson, et, dans un cas, le patient a eu une réaction très vive, avec pâleur et état syn-copal, d'ailleurs très passager. Nous ne saurions dire s'il s'est agi d'un véritable choc ou d'une réaction due à la douleur. Quoi qu'il en soit, la crainte de ces incidents nous a empêché d'utiliser ce traitement plus souvent.

OBSERVATION X.

G... (Jacques), étudiant, 23 ans.

Atteint de blennorrhagie aiguë. Sur frottis coloré au Gram, on note de nombreux polynucléaires, de nombreux gonocoques et de très rares cocci Gram +. Avant tout autre traitement, on pratique des instillations de pyocyanose, que le malade garde 10 à 15 minutes. Ce traitement — d'ailleurs douloureux — est poursuivi pendant six jours. Il amène une diminution notable dans la quantité de l'écoulement. Sur frottis, on constate toujours des gonocoques, mais assez rares, avec peu de germes associés. Le malade, à partir de ce moment, cesse ces instillations et se soigne par la méthode des grands lavages. Il est guéri en un mois. Après ce temps, plus de suintement le matin au lever. Après massage de la prostate, le liquide examiné ne révèle plus de gonocoques malgré un examen prolongé.

OBSERVATION XI.

M... (Georges), étudiant en médecine.

Contracte le 27 avril une blennorrhagie. Le 1^{er} mai, écoulement purulent, douleur à la miction, érections douloureuses. Nous voyons notre ami le même jour, et, après frottis, qui nous montre uniquement du gonocoque et des polynucléaires, nous lui faisons une instillation de pyocyanose. Elle réveille de la douleur et une vive

brûlure le long du canal. On fait la même opération pendant dix jours, à raison de deux fois par jour. A cette date, 10 mai, on fait un frottis avec un écoulement minime; il nous montre des polynucléaires, des nombreux cocci et bâtonnets Gram +, quelques longs bâtonnets Gram — et de très rares gonocoques.

Le malade continue le traitement jusqu'au 15 mai; il y associe des antiseptiques urinaires pris par voie buccale. Le 15, sur frottis, on ne trouve pas de gonocoques; pourtant persiste un léger écoulement blanchâtre, visqueux, filant.

Le 15 mai, le malade commence la méthode des grands lavages au permanganate de potasse à raison de 2 lavages par jour. L'état ne subit aucun changement jusqu'au 10 juin. Entre temps, le malade nous donne plusieurs frottis, sur lesquels nous ne trouvons jamais de gonocoques. Le 10 juin, il commence à prendre du Santal et continue ses lavages. Fin juin, on ne constate plus de suintement au méat. Après épreuve de la bière et bon repas bien arrosé, le malade ne constate plus rien d'anormal, et il cesse tout traitement.

IV. — Pyocyanose et coryza.

De divers côtés, les oto-rhino-laryngologistes ont cherché, souvent avec succès, à appliquer au traitement des infections suppurées du rhino-pharynx la méthode des pansements locaux par antivirüs de Besredka.

M. le Professeur agrégé Aubertin s'est demandé si des résultats semblables ne pourraient pas être obtenus dans ces cas par de simples applications de pyocyanose.

Quelques essais ont été effectués dans ce sens en clientèle privée par M. le Docteur Noël Moreau, à qui il a paru que les résultats obtenus étaient sensiblement analogues à ceux que produisaient l'application des stocks lysats vaccins commerciaux. Mais malheureusement nous ne pouvons apporter ici aucune observation précise sur ce sujet, étant donné les conditions spéciales dans lesquelles ces essais ont

été faits, et qui ne se sont pas prêtés à des examens bactériologiques répétés et même à des traitements prolongés.

Par contre, M. le Professeur agrégé Aubertin nous a conseillé d'utiliser la pyocyanose dans les coryzas aigus, et nous avons pu ici obtenir d'excellents et nombreux résultats.

La technique des applications est des plus simples. Elle consiste à laisser tomber dans chaque narine le contenu d'une ampoule de 1 cc. de pyocyanose, la tête étant en hyperextension forcée. On renouvelle l'instillation intranasale deux fois par jour.

Immédiatement, on éprouve une vive brûlure, mais qui ne dure que très peu de temps (quelques secondes). L'odeur et le goût de viande macérée dégagée par le produit sont un peu plus persistants.

Chez un sujet infecté de longue date et présentant en particulier une sensibilité anormale du fait d'ostéite sinusienne, M. le Professeur agrégé Aubertin a observé une douleur si intense que le patient n'a pas voulu renouveler l'instillation, mais il s'agit là d'un cas exceptionnel.

En général, l'assèchement de la muqueuse se produit en 24 heures. Nous avons essayé ce traitement dans plus de 30 cas, et dans presque tous les cas le résultat fut le même. Nous ne pouvons ici donner toutes les observations, beaucoup de personnes ayant négligé, malgré notre prière, de nous les donner. Mais nous pouvons toujours rapporter 17 cas, qui sont tous d'ailleurs calqués les uns sur les autres.

OBSERVATION I.

T... (Jean), 23 ans.

Début le 22 novembre par céphalée, fatigue générale, écoulement nasal léger, devenant abondant le 24. Le 25 au soir, instillation intranasale de 1 cc. de pyocyanose. Le 26 au matin, dégagement considérable, l'écoulement est tari.

OBSERVATION II.

A... (André), 27 ans.

Début le 26 novembre par abondant écoulement liquide. Le 26 au soir, instillation intranasale de pyocyanose. Le 27 au matin, état local amélioré, nouvelle instillation. Le soir, les symptômes ont presque cessé.

Guérison le lendemain.

OBSERVATION III.

R... (Armand), 33 ans.

Début le 14 novembre, abondante sécrétion nasale, céphalée vive, douleur à la base du nez, sensation de brûlure. Le 15 au matin, instillation de pyocyanose, qui provoque une abondante sécrétion. Le 15 au soir, l'écoulement est très diminué. Le 16 au matin, guérison.

OBSERVATION IV.

D... (Francis), 21 ans.

1° Coryza le 1^{er} décembre, avec écoulement abondant, picotement, douleur nasale. Guérison après trois instillations de pyocyanose.

2° Coryza le 10 janvier, guérison en deux jours (4 instillations).

OBSERVATION V.

G... (Henri), 24 ans.

Vient nous trouver le 25 février pour coryza violent, avec asthénie, abattement et douleur intranasale. L'écoulement n'est pas très abondant. Instillations de pyocyanose le 25 février au soir et le 26 au matin. Le 26 au soir, le malade est guéri.

OBSERVATION VI.

T... (Emile), 23 ans.

Coryza violent ayant déjà duré deux jours. Guéri en 24 heures par deux instillations de pyocyanose.

OBSERVATION VII.

M... (Jean), 24 ans.

Coryza débutant le 1^{er} mars. Se manifeste par un abondant écoulement liquide, avec douleur et brûlure. La guérison demande trente-six heures, avec instillation de 3 ampoules de pyocyanose.

OBSERVATION VIII.

P... (Josette), 23 ans.

Début du coryza le 10 octobre, avec abondant écoulement, très nombreux éternuements et céphalée vive. Guérison en 24 heures par instillations de 3 ampoules de pyocyanose.

OBSERVATION IX.

B... (Jean), 50 ans.

Début le 26 septembre par éternuements, écoulement abondant, sensation de brûlure et douleur à la base du nez. Application de pyocyanose le 26 au soir, le 27 au matin et au soir. Le 28 au matin, guérison complète.

OBSERVATION X.

P... (Andreline), 63 ans.

Guérisons répétées de coryzas aigus en un délai de 24 heures à 48 heures, ayant nécessité 6 à 8 instillations de pyocyanose.

OBSERVATION XI.

G... (Marcel), 20 ans.

Début le 1^{er} mars par éternuement, céphalée, abondant écoulement. L'instillation de pyocyanose provoque une vive douleur. Pourtant le malade la renouvelle deux fois; il est guéri le 3 au matin.

OBSERVATION XII.

R... (Rose), 30 ans.

Sujette tous les hivers aux coryzas. Se soigne depuis novembre

1930 avec la pyocyanose, qui, d'après elle, la guérit toujours en 24 heures à 36 heures, après avoir toutefois provoqué une abondante sécrétion nasale après l'instillation.

OBSERVATION XIII.

B... (Marie), 40 ans.

Début du coryza le 29 septembre 1932. Fièvre (38°5), abattement, violente douleur à la racine du nez avec cuisson. Peu de sécrétion. A la suite d'une instillation pratiquée le soir même, le lendemain matin l'état s'est amélioré, la douleur est très atténuée. Plus de sécrétion. Tous les phénomènes disparaissent le surlendemain matin.

OBSERVATION XIV.

C... (Ange), 9 ans.

Coryza aigu soigné dès le début par l'instillation intranasale de pyocyanique, qui réveille une douleur vive avec cris de l'enfant. Guérison en 3 jours.

OBSERVATION XV.

B... (Jean), 22 ans.

Fils de pharmacien, qui, après avoir essayé de nombreuses spécialités, consent à se laisser instiller dans chaque narine 1 cc. de pyocyanose au cours d'un coryza aigu datant de trois jours. 48 heures après, la guérison est à peu près complète.

OBSERVATION XVI.

C... (Marie-Louise), 19 ans.

Coryza aigu avec abondant écoulement accompagné de très nombreux éternuements. A la première instillation, la malade déclare que l'odeur désagréable du produit ne lui permet pas une utilisation poussée. Sur nos conseils, elle veut bien se faire deux nouvelles instillations et guérit après 36 heures.

OBSERVATION XVII.

(Auto-observation.)

Nous avons utilisé pour nous-même, à différentes reprises, la pyocyanose dans le traitement de nos coryzas. Même un coryza violent a toujours été guéri, au maximum 36 heures après le début du traitement.

CONCLUSION.

Il résulte de ces faits que la pyocyanose constitue un bon agent thérapeutique contre le coryza, affection si ennuyeuse, pour le traitement de laquelle tant de procédés sont recommandés et où si peu ont une action.

CONCLUSIONS

I. — La pyocyanose est un lysat filtrat obtenu avec une culture de bacilles pyocyaniques en bouillon ordinaire, ayant séjourné un mois à l'étuve et filtrée sur bougie Chamberland L3. /

La même définition s'applique à la pneumobacilliose, qui est le résultat de la lyse et de la filtration d'une culture de pneumobacilles de Friedländer.

II. — La pyocyanose est douée de propriétés microbicides et lytiques vis-à-vis d'un certain nombre de microbes : vibron cholérique, bacilles diphtériques, micrococcus melitensis, entérocoque, streptocoque, pneumocoque, bacillus subtilis, bacillus mesentericus, typhiques et paratyphiques A et B, bacille de Shiga, bacille de Flexner, bacille de Morgan, bacille de Gärtner, bacille pesteux et bactériidie charbonneuse.

Elle n'exerce, par contre, aucun effet sur : le pyocyanique, le protéus X 19, le bacille d'Aertricke, le colibacille et le staphylocoque doré.

III. — Cette action s'exerce plus ou moins rapidement suivant les espèces considérées. En effet, le temps d'immersion suffisant pour amener la destruction des germes sensibles varie de deux heures à cent vingt-cinq heures.

IV. — Déposés à la surface d'une culture raclée de bacilles pyocyaniques, les germes qui ont été tués par la pyocyanose

ne se développent pas d'une façon apparente, pourtant ils restent vivants. Le bacille diphtérique cependant est tué.

V. — L'action microbicide et bactériolytique de la pyocyanose est très intense vis-à-vis du bacille diphtérique. Si ce lysat filtrat est fabriqué à partir d'un bacille pyocyanique régulièrement repiqué tous les deux jours sur une culture de bacilles diphtériques, l'effet microbicide est encore plus rapide.

VI. — La pyocyanose n'atténue pas la toxine diphtérique. Le bacille pyocyanique, par contre, en se développant dans la toxine, la neutralise.

VII. — Le bacille pyocyanique développé au contact d'une culture de bacilles diphtériques finit par détruire celle-ci, mais cette action s'exerce beaucoup plus lentement que celle de la pyocyanose, car, dans ces conditions, le bacille diphtérique peut rester à l'état vivant sur le milieu où il a été développé pendant quarante-huit heures à partir du moment où le pyocyanique a été greffé à son niveau.

VIII. — L'action microbicide directe du bacille pyocyanique vivant est peu intense; celle de ses produits de sécrétion est plus marquée. Mais ce sont surtout les produits de sa lyse qui sont doués d'un fort pouvoir microbicide et bactériolytique.

IX. — L'action microbicide et bactériolytique de la pneumobacilliose s'exerce vis-à-vis des germes suivants : bacilles diphtériques, bacilles pesteux, *micrococcus melitensis* et *abortus*, streptocoque, bacilles de Shiga et de Strong, bactérie charbonneuse.

Cette action microbicide est nulle vis-à-vis des germes suivants : staphylocoque doré, *bacillus subtilis*, *bacillus mesentericus*, colibacille, typhique et paratyphique, pyocyanique,

vibron cholérique, pneumobacille, protéus X 19, bacilles de Morgan, de Gärtner et d'Aertricke, bacille présumé de la psittacose.

X. — Cette action s'exerce plus ou moins rapidement suivant les espèces considérées. En effet, le temps d'immersion suffisant pour amener la destruction des germes sensibles varie de trente minutes à trente-six heures.

XI. — Déposés à la surface d'une culture raclée de pneumobacilles de Friedländer, tous les germes, même les diphtériques, poussent plus ou moins intensément.

XII. — L'action microbicide et bactériolytique de la pneumobacilliose est très intense vis-à-vis du bacille diphtérique. Si ce lysat filtrat est fabriqué à partir d'un pneumobacille de Friedländer régulièrement repiqué tous les deux jours sur une culture de bacilles diphtériques, l'effet microbicide est le même.

XIII. — L'action microbicide directe du pneumobacille vivant est peu intense. Celle de ses produits de sécrétion est nulle. Ce sont surtout les produits de lyse de ce germe qui sont microbicides et bactériolytiques.

XIV. — La pyocyanose est dépourvue de toxicité.

XV. — Injectée précocement à l'animal inoculé de charbon, la pyocyanose enraye l'évolution de la maladie. Elle n'a aucune action sur celle de la rage. Elle n'influe pas, non plus, sur l'infection streptococcique expérimentale.

XVI. — Employée dans le traitement des métrites, la pyocyanose en pansement vaginal détruit le gonocoque dans un délai minimum de 9 jours (obs. I) et maximum de 20 jours (obs. V). Elle désodorise rapidement les sécrétions et trans-

forme en une quinzaine de jours un abondant écoulement purulent en un léger suintement muqueux.

Dans la blennorrhagie urétrale chez l'homme, elle paraît agir favorablement. Mais elle est d'application douloureuse.

XVII. — En instillation intranasale, la pyocyanose guérit rapidement le coryza aigu.

VU, POUR LE DOYEN :

L'Assesseur,

J. GUYOT.

VU, BON A IMPRIMER :

Le Président,

P. MAURIAC.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Bordeaux, le 16 novembre 1932.

Le Recteur de l'Académie,

A. TERRACHER.

BIBLIOGRAPHIE

- BOUCHARD (Ch.). — Influence qu'exerce sur la maladie charbonneuse l'inoculation du bacille pyocyanique. *C. R. de l'Acad. des sciences*, 1888-1889, t. CVIII, p. 743.
- CHARRIN et GUIGNARD. — Action du bacille pyocyanique sur la bactériémie charbonneuse. *C. R. de l'Acad. des sciences*, 1888, t. CVIII, p. 764.
- FREUDENREICH. — Action du bacille pyocyanique sur la bactériémie charbonneuse. *Ann. de microgr.*, 1888-1889, p. 465.
- De l'antagonisme des bactéries. *Ann. microgr.*, 1889-1890, t. I, p. 1.
- SAAR. — Pyocyanase dans les angines. *Deutsche med. Wochenschr.* 1908.
- SCHLIPPE. — Pyocyanase et porteur de germes diphtériques. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1908.
- PODWISSOTZKI et ADANOFF. — Action de la pyocyanase sur les microbes. *Centralbl. für Bakter.* 1909.
- ESCHERICH. — Pyocyanase comme désinfectant de la gorge, des diphtéries et des méningites cérébro-spinales. Soc. Imp. Roy. de Vienne, 16 juin 1906.
- RAUBITSCHER et KUSS. — Propriétés bactéricides de la pyocyanase. *Centralbl. für Bakter.* 1908, t. XLVIII.
- ROUILLIER (M.). — Essai en pathologie comparée sur le pouvoir curatif des bouillons de culture pyocyanique et de la pyocyanéine dans le traitement du charbon bactérien. Thèse Toulouse, 1913.
- DESPEIGNES. — Bacille pyocyanique à grande variabilité pigmentaire. *Revue d'hygiène*, Paris, 1915, t. XXXVII, p. 944-950.
- GESSARD. — Diagnostic pigmentaire du bacille pyocyanique. *Ann. de l'Institut Pasteur*, Paris, 1919, t. XXXIII, p. 241-260.
- LAUNOY. — Action du sérum des animaux infectés par le bacille pyocyanique sur la protéase. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1919, t. LXXXII, p. 1274-1276.

- MILANI. — La vaccinothérapie du bacille pyocyannique. *Pathologica Geneva*, 1919, t. XI, p. 404-411.
- GESSARD. — Classement des germes pyocyanniques par les pigments. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1919, t. LXXXII, p. 795-798.
- ANGELIO (DE). — Intorno alla spontanea de.eollarazione e modificazione delle propreta patogene osservate in particalare bacillo pyocianeae. *Pathologica Geneva*, 1919, t. XI, p. 404-411.
- LAUNOY. — Sur l'antiprotéase du bacille pyocyannique. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1919, t. LXXXII, p. 263-265.
- DUPONT. — Le vaccin de Delbet : indication, technique, résultats. *Progrès médical*, Paris, 1920, t. XXXV, p. 435-498.
- BLOOMFIELD. — Le mécanisme des porteurs de bacilles au point de vue du bacille de Friedländer. *Amer. Rev. Tub.*, janv. 1921, t. IV,
- DELBET, BEAUVY, GIRODE. — Injections thérapeutiques de cultures vieilles. *Bull. de l'Acad. de méd.*, 1914; *Soc. de chir.*, 4 févr. 1921 et 2 mars 1921.
- GATE et PAPACOSTA. — Antagonisme biologique entre le bacille de Loëffler et le pneumobacille. *C. R. de la Soc. de biol.*, 2 nov. 1921, t. LXXXV, p. 859-861.
- A propos de l'antagonisme entre le bacille diphtérique et le pneumobacille. Son explication par le rôle empêchant de la toxine pneumobacillaire vis-à-vis de la sécrétion de la toxine diphtérique. *C. R. de la Soc. de biol.*, 3 déc. 1921, t. LXXXV, p. 1038-1040.
- MARBAIS. — Pneumobacilles à cultures de réactions réversibles. Thèse Paris, 1921.
- AUBEL. — Action du bacille pyocyannique sur l'asparagine. *C. R. de l'Acad. des sciences de Paris*, 1921, p. 179-181.
- FALQUE. — Pyocyanoïdes et réactions de l'antiprotéase. *C. R. de la Soc. de biol.*, XXXV, 1921, p. 798.
- DUKES. — L'enzyme protéolytique du bacillus pyocyanus, inhibition produite par le sérum normal et immunisant. *Journ. Bact. a. Pathol.*, 1922, t. XXV, p. 258.

- LIOT. — Sur la culture du bacille pyocyanique sur milieux artificiels définis. *C. R. de l'Acad. des sciences*, Paris, 1922, t. XXIV, p. 575.
- GATE, LEBŒUF et RAPACOSTA. — Fréquence relative dans les angines de l'association bacille de Loëffler et pneumobacille. *C. R. de la Soc. de biol.*, 6 mai 1922, t. LXXXVI, p. 929-931.
- FAVREUL et FORTINEAU. — Traitement de quelques infections aiguës par un vaccin pyocyanique. *C. R. de la Soc. biol.*, avril 1922, p. 774.
- QUINOGA. — Bactériophage du bacille pyocyanique. *Soc. de biol.*, Buenos-Aires, 6 oct. 1922.
- WEINBERG et AZNAR. — Le bacille pyocyanique et les bacilles anaérobies. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1923.
- GORIS et LIOT. — Importance des sels ammoniacaux organiques dans la production de la pyocyanine par le bacille pyocyanique. *C. R. Acad. des sciences*, Paris, 1923, t. XXXVIII, p. 52-54.
- HAUDOROY (P.) et PEYRE (E.). — Le bactériophage du bacille pyocyanique. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1923, p. 689.
- LIOT. — Culture du bacille pyocyanique sur milieux chimiquement définis. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1923, t. XXXVII, p. 234-274.
- ROCHAIX. — Sur la régénération de la fonction pigmentaire du bacille pyocyanique par son passage sur milieux sucrés. *Soc. de biol.*, 1923, t. XXXIV, p. 223-226.
- BLANC. — Transformation des bacilles pyocyaniques en bacilles sans pigments. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1923, p. 52-54.
- DRBOHLAV (G.). — Relation des phénomènes de Twort, de l'Hérelle et de l'anti-virus de Besredka du bacille pyocyanique. *Casops. Le Karw. Cestych*, 1923, t. LXVI, p. 27.
- COMBRISCO et MAGHERU. — Sur la lyse du bacille pyocyanique. *Soc. roumaine de biol.*, 9 janv. 1923.
- LESBRE. — Destruction des bacilles de Loëffler chez les porteurs sains par inoculation pharyngée de pneumobacille de Friedländer. *C. R. de la Soc. de biol.*, 27 janv. 1923, t. LXXXVIII, p. 227-228.

- PAPACOSTA et GATÉ. — Recherches sur les antagonismes microbiens. Action du bacille de Loeffler sur le pneumobacille. *C. R. de la Soc. biol.*, 24 mars 1923, t. LXXXVIII.
- WOGELIN. — Bronchopneumonie à pneumobacilles. *Soc. méd. mil. franç.*, 17^e année, 1^{er} et 15 mars 1923, 815.
- OKUDA. — Bactériophages pyocyaniques. *Arch. f. Hyg.*, 26 juin 1923, t. XCII, p. 109-138.
- WEINBERG et AZNAR. — Le bacille pyocyanique et les microbes anaérobies. *C. R. de la Soc. de biol.*, 21 juill. 1923, t. LXXXIX, p. 466-468.
- JEANBRAU. — Infection uro-génitale à pneumobacille guérie par autovaccin. *Bull. de la Soc. de Montpellier*, 5 avril 1924.
- SAINT-FLORENT (DE). — Contribution à l'étude du traitement du charbon par l'injection sous-cutanée de pyocyanéine. Thèse Paris, 1924.
- GESSARD. — Sur l'odeur des cultures pyocyaniques. *C. R. de l'Acad. des sciences*, 1924, t. XXVIII, p. 1857-1859.
- GOBBI. — Recherches expérimentales sur la toxine du pyocyanique. *Pathologica Geneva*, 1924, t. XVI, p. 335-345.
- BRUSSANT. — L'antigène des bacilles pyocyaniques. *Soc. de biol.*, 1924, p. 1290.
- HADLEY. — Lyse transmissible du bacillus pyocyaneus. *Journ. Inf. Diseases*, mars 1924, t. XXXIV, p. 260-304.
- MEADER. — Serological and cultural reactions and B. pyocyanic. *Amér. Journ. Hyg.*, juill. 1924, t. IV, p. 403-404.
- WRIE. — Etude de la pyocyanine, matière colorante bleue du bacillus pyocyaneus. *Deutsche Méd. Wochenschr.*, nov. 1924, t. LXXVIII, p. 1649-1650.
- PESCH et SONNENSCHN. — Variabilité et bactériophage du bacille pyocyanique. *Klin. Wochenschr.*, 13 août 1925, t. IV, p. 1585-1586.
- LODE. — Empêchement et action bactériophagique chez bacillus pyocyaneus. *Arch. f. Hygien.*, 1923, t. XCIII, p. 267-279.
- AVERY, HEIDELBERGER et GOEBEL. — The soluble specific substances of a stain Friedländer bacillus. *Proc. Soc. Exp. biol.*, 1925, t. XXII.

- HAUPT, HORIG. — Biologie du bacille pyocyanique. *Central f. Bakt orig.*, 15 août 1925, t. XCVI, p. 17-23.
- ZOELLER. — Les cultures cumulatives, les altéro-toxines, l'altéro-toxine diphtéro-pyocyanique. *C. R. de la Soc. de biol.*, 14 févr. 1925.
- GESSARD-FERNBACH et RULLIER. — Modifications morphologiques du bacille tuberculeux en culture associée avec un bacille pyocyanique. *C. R. de l'Acad. des sciences*, 30 nov. 1925, t. CLXXXI.
- DUCHON. — Les broncho-pneumonies infantiles et leurs traitements par les lysats vaccins. Thèse Paris, 1926.
- Formule des lysats vaccins de broncho-pneumonie. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1926, t. II, p. 1393.
- WALLE (N. VAN DER). — Over synthetische werkiz van bactericële lipises. *Journ. Hyg. and Sérol.*, 1926, t. I, p. 71.
- JAUSION, DIOT et VANCEL. — Quelques essais de traitement biologique des pyodermites. II^e Congrès des dermatologistes et syphiligraphes de langue française, Bruxelles, Anvers, 1926.
- MEGRAIL. — Toxicity of filtrates of B. Friedländer, *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1926, t. XXIII, p. 655.
- DUCHON. — Les toxines microbiennes et le bacille pyocyanique. *C. R. de la Soc. de biol.*, 27 nov. 1926, t. XCV, p. 1344-1346.
- CHALIER, GATÉ, GRANMAISON. — Les angines à bacilles de Loëffler et à pneumobacilles. *Paris médical*, 11 sept. 1926, p. 205.
- GOEBEL (P.) et AVERY (T.). — The soluble specific substance of Friedländer's bacillus III, on the isolation et properties of the specific carbolydrates from types A and C Friedländer's bacilles. *Journ. Exp. Med.*, oct. 1927, t. XLXI, p. 601.
- FLANDIN, DUCHON et BARREAU. — Essai de traitement des manifestations articulaires de la blennorrhagie par le lysat vaccin à gonocoque. *Soc. méd. des hôp. de Paris*, 1^{er} juill. 1927, p. 1071.

- REILLY et RIVALLIER. — Sur l'atténuation des antigènes microbiens par les ferments protéolytiques du bacille pyocyane. *Soc. méd. des hôp. de Paris*, 10 juin 1927, p. 901.
- CATHALA. — Traitement des broncho-pneumonies de la rougeole par les lysats vaccins. *Soc. méd. des hôp. de Paris*, 10 juin 1927, p. 893.
- DUCHON. — A propos des notes de MM. Reilly et Rivallier, de M. Zoeller. *Soc. de biol.*, nov. 1926, *Bull. de la Soc. méd. des hôp. de Paris*, 1^{er} juill. 1927, p. 1083-1085.
- A propos de la communication de M. Cathala sur la lyso-vaccinothérapie dans les broncho-pneumonies. *Soc. méd. des hôp. de Paris*, 10 juin 1927, p. 853.
- FRIEDLANDER et SCHOENHOLZ. — Substances toxiques dans les cultures du bacille de Friedländer. *Disc. Soc. for exp. and med.*, mars 1927, t. XXIV, p. 555.
- FLANDIN et DUCHON. — Les effets des lysats vaccins à pneumocoques dans le traitement des pneumonies de l'adulte. *Soc. méd. des hôp. de Paris*, 18 févr. 1927, p. 203.
- FLANDIN (Ch.). — Sur le rôle du bacille diphtérique dans les broncho-pneumonies. Action des lysats vaccins polymicrobiens de Duchon. *Soc. méd. des hôp. de Paris*, 11 févr. 1927, p. 133.
- SELIBER (C.). — La décomposition des graisses par quelques micro-organismes. *Bull. de l'Inst. Lesshapt*, 1927, t. XIII.
- CHATTON (E. et M.). — Sur le pouvoir cytolytique immédiat des cultures de quelques bactéries chromogènes. *Soc. de biol.*, 10 juin 1927, p. 291.
- CHATTON. — Sur les propriétés et la nature de la cytolysine du bacille pyocyane. Différenciation d'avec les pigments, les ferments, les protides. *C. R. Soc. de biol.*, Strasbourg, 1927, t. XCVI, p. 292.
- DARZINE. — Sur la variabilité du bacille pyocyane. *C. R. de la Soc. de biol.*, mai 1927, p. 92-93.
- STHEEMAN (A. A.). — Die role des Pyocyanino im stoffwechsel von Pseudomonas pyocyanea. *Biochem. zeitschr.*, 1927, p. 320.
- GATÉ (J.) et GARDERE (H.). — Apparition tardive d'un principe bactériographique de deux souches à bacilles pyocyaniques

- au cours de leur vie cellulaire. *C. R. de la Soc. de biol.*, 21 févr. 1927, p. 545.
- FABRIS. — Antagonisme entre le bacille du charbon et le bacille pyocyanique. *Bolletino dell' Istituto sierotherapico milanese*, avril 1927.
- LEWY-BRUHL et LEGRAND (Mme). — Culture de pneumobacilles en milieux cliniquement définis. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1930, t. CIII, p. 1070.
- BEDARIDA. — Manifestazioni batteriologiche nell' antagonismo fra batterio piocianeo ed alcuni gennai isolati da focai setici. *Giorn. di Batteriol. e Immuno.*, n° 8, 30, 1023.
- RIGOBELLO. — A propos de l'antagonisme entre le bacille pyocyanique et son filtrat vis-à-vis des différentes bactéries *in vitro* et *in vivo*. *Boll. Servione. Ital. Societa Intern. di Microbiol.*, 1930, II, p. 332.
- LOMBY et DUBLE. — Etude de deux bacilles pyocyaniques et d'un bacille subtilis inactif à l'égard de la toxine diphtérique. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1930, t. CIII, p. 308.
- DESTERLIN (Ernest J.). — Experimental studies with pyocyanus filtrates. *Journ. of Immun.*, avril 1929, t. XVI.
- NAKAGAWA (S.). — De la vaccinothérapie de la colite chronique pyocyanique par voie buccale. *Arch. japon. de chir.*, 1^{er} mars 1930, t. VII, fasc. 2.
- LOMBY (P.) et GILLET. — Identification d'un bacille pyocyanique dégradé. *Soc. belge de biol.*, 23 févr. 1930.
- HAUDUROY. — Les ultra-virus et les formes filtrantes des microbes, 1929.
- KENDAL-FRIEDMAN. — Etudes quantitatives sur l'activité chimique du bacille pyocyanique au ralenti. *Journ. of Inf. diseases*, 1930, t. XLVII, p. 229.
- LÉVY-BRUHL et LEGRAND. — Sur la toxine soluble du pneumobacille. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1930, t. LV, p. 263.
- GALTIER. — La vaccinothérapie associée : lysat plus corps bactériens, Thèse de Montpellier, 1931.

